

**PENGARUH PREVENTIF MADU HUTAN SUMBAWA TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR, KADAR SGPT,
DAN SGOT DARAH TIKUS (*Rattus norvegicus*)
YANG DIINDUKSI PLUMBUM ASETAT**

SKRIPSI

Oleh:

OLENKA PUTRI WINDIARKO

135130101111053



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**PENGARUH PREVENTIF MADU HUTAN SUMBAWA TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR, KADAR SGPT,
DAN SGOT DARAH TIKUS (*Rattus norvegicus*)
YANG DIINDUKSI PLUMBUM ASETAT**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:

OLENKA PUTRI WINDIARKO

135130101111053



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**Pengaruh Preventif Madu Hutan Sumbawa Terhadap
Gambaran Histopatologi Hepar, Kadar SGPT, dan
SGOT Darah Tikus (*Rattus norvegicus*)
yang Diinduksi Plumbum Asetat**

Oleh :
OLENKA PUTRI WINDIARKO
135130101111053

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 7 Agustus 2018
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Dra. Herawati, MP
NIP. 19580127 198503 2 001

drh. Fajar Shodiq Permata, M. Miotech
NIP. 19870501 201504 1 001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Kedokteran Hewan
Fakultas Kedokteran Hewan

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 198802 2 001

IDENTITAS TIM PENGUJI

JUDUL SKRIPSI:

Pengaruh Preentif Madu Hutan Sumbawa Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar, Kadar SG{T, dan SGOT Darah Tikus (*Rattus Norvegicus*) yang Diinduksi Plumbum asetat

Nama Mahasiswa : Olenka Putri Windiarko

NIM : 135130101111053

Program Studi S1 : Kedokteran Hewan

TIM DOSEN PENGUJI

Dosen Penguji 1 : drh. Ahmad Fauzi, M.Si

Dosen Penguji 2 : drh. Galuh Chandra Agustina, M.Sc

Tanggal Ujian : 7 Agustus 2018

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Olenka Putri Windiarko

NIM : 135130101111053

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis Skripsi Berjudul:

Pengaruh Preventif Madu Hutan Sumbawa Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar, Kadar SGPT, dan SGOT Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Plumbum asetat

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dan skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 2018

Yang menyatakan,

(Olenka Putri Windiarko)

NIM. 135130101111053

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Nama : Olenka Putri Windiarko

Tempat/ tanggal lahir : Jember. 01 November 1994

NIM : 135130101111053

Fakultas : Fakultas Kedokteran Hewan

Jurusan : Pendidikan Dokter Hewan

Semester : 10 (Genap)

Tahun Ajaran : 2018

Jenis Kelamin : Perempuan

Agama : Islam

Status Perkawinan : Belum Kawin

Pekerjaan : Mahasiswa

Alamat : Jl. Bangka IV/25 Jember, Jawa Timur

Email : olenkaputri@gmail.com

Riwayat Pendidikan : 2001 – 2007 SDN Sumbersari 4 Jember

2007 – 2010 SMPN 12 Jember

2010 – 2013 SMAN 2 Jember

2013 – 2018 Mahasiswa Fakultas Kedokteran
Hewan angkatan 2013

**Pengaruh Preventif Madu Hutan Sumbawa Terhadap Gambaran
Histopatologi Hepar, Kadar SGPT, dan SGOT Darah
Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang
Diinduksi Plumbum asetat**

ABSTRAK

Plumbum asetat merupakan radikal bebas yang dapat menyebabkan gangguan metabolisme tubuh sehingga tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Madu hutan Sumbawa merupakan antioksidan yang mengandung flavonoid sehingga dapat mengurangi dan menetralkan efek radikal bebas berlebih di dalam tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh terapi preventif madu hutan Sumbawa terhadap histopatologi hepar, kadar SGPT dan SGOT yang diinduksi Plumbum asetat. Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih jantan strain Wistar umur 8-12 minggu yang dibagi 5 kelompok perlakuan, yaitu kontrol negatif, kontrol positif dengan pemberian Pb 10 mg/ekor/hari selama 14 hari, dan kelompok terapi preventif dengan madu hutan Sumbawa 25 mg/kg BB, 50 mg/kg BB dan 75 mg/kg BB selama 28 hari dan pemberian Pb dosis 10 mg/ekor/hari selama 14 hari. Pengukuran kadar SGPT dan SGOT dilakukan menggunakan *Autoanalyzer* dan histopatologi hepar menggunakan pewarnaan HE yang diamati menggunakan mikroskop cahaya. Analisa data dilakukan secara kuantitatif dengan menggunakan uji One Way ANOVA dan dilanjutkan dengan uji *Tukey* $\alpha=5\%$ untuk kadar SGPT dan SGOT dan analisa secara kualitatif untuk gambaran histopatologi hepar. Hasil penelitian madu hutan Sumbawa secara signifikan ($P<0,05$) mempengaruhi penurunan kadar SGPT dan SGOT dalam darah dan dapat memperbaiki kerusakan jaringan dengan dosis terbaik yaitu 75 mg/kgBB/hari. Kesimpulan dari penelitian ini bahwa madu hutan Sumbawa dapat dijadikan sebagai preventif untuk menurunkan radikal bebas karena induksi Plumbum asetat.

Kata kunci: Plumbum asetat, SGPT dan SGOT, Madu hutan Sumbawa, Hepar

The Preventive of Sumbawa Forest Honey on Liver Histopathology, SGPT and SGOT on Rats Induced by Lead Ion

ABSTRACT

Plumbum acetate is the free radicals that can cause interference with the metabolism so that the body requires exogenous antioxidants. Sumbawa forest honey is an antioxidant that contains flavonoids that can reduce and neutralize the effect of excess free radicals in the body. This research aims to know the influence of preventive therapy of Sumbawa forest honey against levels of SGPT and SGOT and liver histopathology induced by lead ion. The animals are trying to use are male white rats Wistar strain age 8-12 weeks that divided in 5 different groups, namely negative control group, positive control group that induced by lead ion, and preventive therapy groups with Sumbawa forest honey dose of 25 mg/kgBW, 50 mg/kgBW and 75 mg/kgBW for 28 days and administered with lead ion dose of 10 mg/day for 14 days. Measurement of levels of SGPT and SGOT are performed using the Autoanalyzer and hepar using histology staining HE observed using light microscopy. Data analysis was done using a quantitative test of One-way ANOVA and Tukey test with $\alpha = 5\%$ for levels of SGPT and SGOT and qualitative analysis for hepar histopatology description. Research results showed the forest honey Sumbawa significantly ($P < 0,05$) affect the SGPT and SGOT levels decrease in the blood and can damage the tissues with a dose of 75 mg/IE best kgBW/day. The conclusions of this study that the Sumbawa forest honey can be used as a preventative for lowering free radicals due to induction of Plumbum acetate.

Key words: Plumbum asetat, SGPT and SGOT, Sumbawa forest honey, Liver

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT Tuhan Yang Maha Esa karena telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga Skripsi yang berjudul : **Pengaruh Preventif Madu Hutan Sumbawa Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar, Kadar SGPT, dan SGOT Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Plumbum asetat** telah selesai dilaksanakan. Sholawat serta salam semoga tetap dicurahkan kepada Nabi Muhammad SAW. Naskah skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan.

Dalam penyusunan skripsi ini penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. Dra. Herawati, MP selaku dosen pembimbing pertama atas bimbingan, kesabaran, fasilitas, dan waktu yang telah diberikan.
2. drh. Fajar Shodiq Permata, M. Biotech sebagai dosen pembimbing kedua atas segala bantuan, kesempatan, nasihat, dan arahan yang diberikan tiada hentinya kepada penulis.
3. drh. Ahmad Fauzi, M.Sc. selaku dosen penguji atas kritik dan saran yang diberikan kepada penulis.
4. drh. Galuh Chandra Agustina, M.Si. selaku dosen penguji atas kritik dan saran yang diberikan kepada penulis.

5. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan yang selalu memberikan dukungan tiada henti demi kemajuan FKH UB tercinta.
6. Orangtua tercinta Ayahanda Drs. Oesdiarko dan Ibunda Wiwik, serta Adik-adikku tercinta yang sangat istimewa dalam memberikan dukungan, bantuan, semangat, do'a dan motivasi yang diberikan kepada penulis.
7. Seluruh teman di Kopi Everywhere, teman-teman kelompok penelitian Cindy Oktati Kasari, Arnes Mardasella, Diana Anggraeni dan Putri Stefy Graf yang senantiasa memberikan saran, kritik, motivasi semangat, inspirasi, bantuan, kebersamaan, keceriaan dan semua hal yang sangat luar biasa.
8. Panji Mada Dirgantara, terima kasih atas do'a, semangat, kesetiaannya menemani dan menjadi tempat curhat yang sabar.
9. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penulisan karya tulis ini yang tidak sempat disebutkan.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun. Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah diberikan dan skripsi ini dapat memberikan manfaat dan wawasan tidak hanya bagi penulis namun juga bagi pembaca.

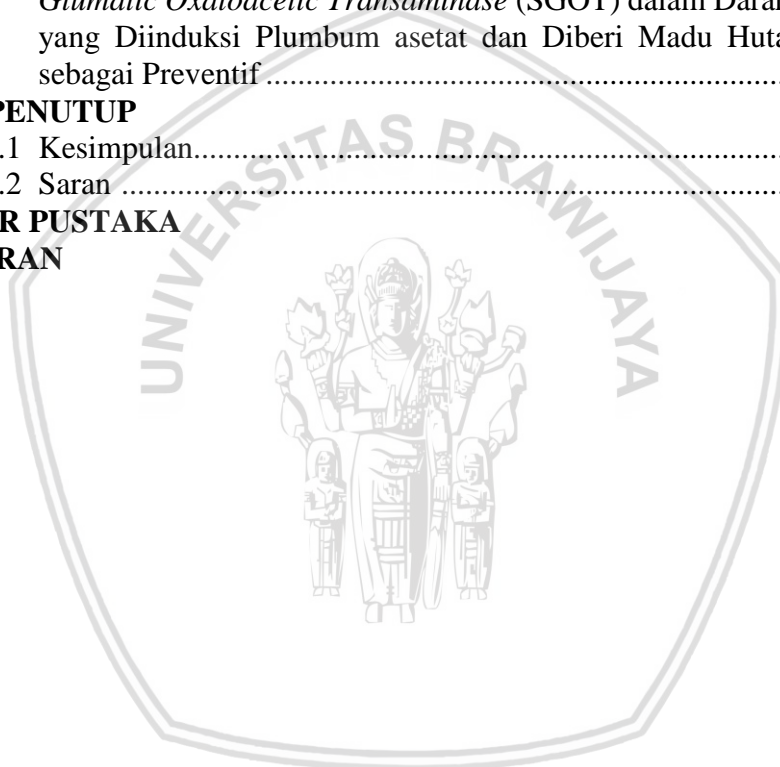
Malang, 2018

(Olenka Putri Windiarko)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERNYATAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Batasan Masalah	5
1.4 Tujuan Penelitian	7
1.5 Manfaat Penelitian	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tikus Putih	8
2.2 Madu	9
2.3 Plumbum	11
2.4 Hepar	13
2.4.1 Struktur Hepar	13
2.4.2 Fisiologi Hepar	15
2.5 SGPT/SGOT	16
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konseptual	19
3.2 Hipotesis Penelitian	22
BAB 4 METODE PENELITIAN	
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	23
4.2 Rancangan Penelitian	23
4.3 Penetapan Jumlah Perlakuan dan Ulangan	24
4.4 Karakteristik Sampel Penelitian	25
4.4.1 Kriteria Inklusi	25
4.4.2 Kriteria Eksekusi	25
4.5 Variabel Penelitian	25
4.6 Alat dan Bahan	26
4.6.1 Alat	26
4.6.2 Bahan	26
4.7 Prosedur Penelitian	26
4.7.1 Pembagian Kelompok Tikus	26
4.7.2 Aklimatisasi	27
4.7.3 Pemberian Madu Hutan Sumbawa	27

4.7.4 Pemberian Plumbum	27
4.7.5 Pengambilan Hepar dan Darah Tikus	29
4.7.6 Pembuatan Preparat Histopatologi Metode Paraffin	29
4.7.7 Pewarnaan <i>Hematoxylin Eosin</i> (HE)	30
4.7.8 Pengamatan Histopatologi	32
4.7.9 Pengukuran Kadar SGPT/SGOT	32
4.8 Analisa Data	33
BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN	
5.1 Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Putih yang Diinduksi Plmbum asetat dan Diberi Madu Hutan Sumbawa sebagai Preventif	34
5.2 Kadar <i>Serum Glutamic Piruvic Transaminase</i> (SGPT) dan <i>Serum Glumatic Oxaloacetic Transaminase</i> (SGOT) dalam Darah Tikus Putih yang Diinduksi Plumbum asetat dan Diberi Madu Hutan Sumbawa sebagai Preventif	43
BAB 6 PENUTUP	
6.1 Kesimpulan	52
6.2 Saran	52
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Dua Arah Perlakuan dan Ulangan	24
4.2 Pola Analisa Ragam RAL.....	33
5.1 Rata-rata Kadar SGPT dalam Darah Tikus Putih.....	44
5.2 Rata-rata Kadar SGOT dalam Darah Tikus Putih.....	47



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	9
2.2 Letak anatomi hepar tikus.....	14
2.3 Struktur mikroanatomi hepar.....	15
3.1 Kerangka konsep.....	19
5.1 Histopatologi organ hepar tikus putih kontrol negatif (pewarnaan HE 400X).....	34
5.2 Histopatologi organ hepar tikus putih kontrol positif (pewarnaan HE 400X).....	34
5.3 Histopatologi organ hepar tikus putih yang diberi madu hutan Sumbawa dengan dosis 25 mg/kg BB (pewarnaan HE 400X).....	35
5.4 Histopatologi organ hepar tikus putih yang diberi madu hutan Sumbawa dengan dosis 50 mg/kg BB (pewarnaan HE 400X).....	35
5.5 Histopatologi organ hepar tikus putih yang diberi madu hutan Sumbawa dengan dosis 75 mg/kg BB (pewarnaan HE 400X).....	36

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Diagram Alir Tahapan Penelitian.....	61
2. Perhitungan Dosis Madu.....	62
3. Pemberian Plumbum asetat.....	63
4. Pembuatan Preparat Histopatologi Hepar.....	64
5. Pewarnaan <i>Hematoxylin Eosin</i> (HE).....	66
6. Pengukuran Kadar SGPT/SGOT.....	67
7. Keterangan Kelaikan Etik.....	68
8. Fitokimia.....	69
9. Statistik SGPT.....	70
10. Statistik SGOT.....	74
11. Persentase Peningkatan dan Penurunan kadar SGPT terhadap kontrol.....	78
12. Persentase Peningkatan dan Penurunan kadar SGOT terhadap kontrol.....	80

DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

<u>Simbol/singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
ANOVA	: <i>Analisis of variant</i>
EC	: <i>Effective concentration</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
EDTA	: <i>Ethylene Diamine Tetraacetic</i>
H ₂ O ₂	: <i>Hydrogen peroxide</i>
HE	: <i>Hematoxylin Eosin</i>
L-Alanine	: <i>Lactate Dehydrogenase</i>
OH	: <i>Oxygen hydroxide</i>
NaCl	: <i>Natrium chloride</i>
NACD	: <i>Niconamide Adenine Dinucleotide</i>
PFA	: <i>Paraformal dehyde</i>
PBS	: <i>Phospat Buffer Saline</i>
RAL	: <i>Rancangan Acak Lengkap</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SGPT	: <i>Serum Glutamic Piruvic Transaminase</i>
SGOT	: <i>Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase</i>
g	: gram
L	: liter
mg	: miligram
mL	: mililiter
mmol	: milimol
nm	: nanometer
pH	: potential of hydrogen
Pb	: Plumbum
°C	: derajat celcius
Δ	: Delta
α	: Alpha
<	: kurang dari
μg	: mikrogram
μL	: mikroliter
%	: persen

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Di zaman yang modern sekarang ini radikal bebas tersebar di mana-mana, pada setiap kejadian pembakaran seperti merokok, memasak, pembakaran bahan bakar pada mesin dan kendaraan bermotor. Paparan sinar ultraviolet yang terus-menerus, pestisida dan pencemaran lain di dalam makanan kita, bahkan karena olah raga yang berlebihan menyebabkan tidak adanya pilihan selain tubuh harus melakukan tindakan protektif. (Nugroho, 2014). Penelitian Wardhayani (2006) mengenai kasus pencemaran logam berat (Pb) dilakukan pada tahun 2006 terhadap sapi potong di TPA sampah kota Semarang. Sedangkan pada tahun 2013 Kafiari, dkk (2013) melakukan penelitian mengenai analisis pencemaran logam berat terhadap sapi potong di tempat pembuangan akhir (TPA) sampah Putri Cempo Surakarta. Kedua penelitian tersebut menyimpulkan bahwa kandungan Pb dalam konsentrasi kecil (rendah) pada pakan. Menurut Azwan, dkk, (2011), pakan yang mengandung logam berat jika dikonsumsi dalam waktu yang lama, maka akan terjadi akumulasi dan tersimpan dalam tubuhnya. Akumulasi logam berat yang berlebih dalam tubuh organisme dapat menyebabkan efek toksik dalam jangka waktu yang lama.

Pada konsentrasi tinggi radikal bebas dan bahan sejenisnya berbahaya bagi makhluk hidup dan merusak semua bagian pokok sel. Radikal bebas juga mengganggu produksi normal DNA (*Deoxyribonucleic Acid*) dan merusak

lipid pada membran sel (Nugroho, 2014). Spesies oksigen reaktif (*Reactive Oxygen Species* atau ROS) dan radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan parah pada sel-sel normal tubuh. Kerusakan ini dapat terjadi pada DNA, protein, dan makromolekul lainnya. Kerusakan ini merupakan awal mula dari berbagai macam penyakit (Cashin-Garbut dan Mandal, 2012).

Menurut Suprijono, dkk. (2011), polusi logam berat termasuk timbal (*Pb*) merupakan masalah yang serius di negara-negara maju maupun negara berkembang seperti Indonesia. Pencemaran lingkungan oleh timbal antara lain diakibatkan oleh penambangan dan industri yang menggunakan timbal. Pencemaran lingkungan oleh asap, debu, dan gas yang mengandung timbal berasal dari asap kendaraan bermotor serta pembuangan limbah pabrik baterai, cat, tekstil, juga buruknya sanitasi makanan, merupakan faktor yang menunjang untuk terjadinya keracunan timbal pada makhluk hidup. Plumbum merupakan zat berbahaya, apabila masuk ke dalam tubuh ternak yang berasal dari pencemaran udara maupun air, dapat menyebabkan penurunan produktivitas, menghambat kerja enzim, menghambat penyerapan mineral oleh tubuh, dan menurunkan kadar antioksidan serta meningkatkan produksi radikal bebas. Ketidakseimbangan antara serangan oksidan dan pertahanan antioksidan pada jaringan dan sel mengarah pada terjadinya kerusakan organ (Faisal, dkk, 2015).

Guyton (2008) menyatakan bahwa sifat timbal yang toksik dan akumulatif ini dapat menyebabkan gangguan di organ tubuh. Timbal dapat mengendap di jaringan organ dan menimbulkan gangguan di organ tersebut.

Salah satunya adalah hati yang merupakan organ dengan laju metabolisme yang tinggi pada tubuh manusia, saling memberikan substrat dan energi dari satu sistem metabolisme ke sistem yang lain, mengolah dan menyintesis berbagai zat yang diangkut ke daerah tubuh lainnya.

Mekanisme kerusakan hepar yang diakibatkan oleh timbal adalah timbal dalam tingkat tertentu dapat menginduksi pembentukan radikal bebas dan menurunkan kemampuan sistem antitoksin sehingga dapat terjadi stress oksidatif (Gurer dan Ercal. 2000). Nekrosis sel yang luas, akan menurunkan kemampuan hepar dalam sintesis enzim dan berdampak pada kadar enzim *Serum Glutamic Piruvic Transaminase* (SGPT) dan *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT). Haki (2009) menyatakan bahwa kadar enzim SGPT lebih peka untuk dijadikan petunjuk terhadap kerusakan hepar karena sangat sedikit kondisi selain kerusakan hepar yang berpengaruh pada kadar SGPT di dalam serum darah.

Radikal bebas dalam jumlah berlebihan akan menurunkan aktivitas enzim-enzim yang berfungsi sebagai antioksidan endogen. Oleh karena itu, dibutuhkan antioksidan eksogen (yang berasal dari bahan pangan yang dikonsumsi) dalam jumlah yang lebih banyak untuk mengurangi dan menetralkan efek peningkatan radikal bebas dalam tubuh (Astuti, 2008). Berbagai bahan alam asli Indonesia banyak mengandung antioksidan dengan berbagai bahan aktifnya. Penggunaan bahan alam asli Indonesia sebagai antioksidan diperlukan untuk meningkatkan kualitas kesehatan masyarakat dengan biaya relatif terjangkau (Werdhasari, 2014).

Madu hutan Sumbawa merupakan salah satu madu hutan terbaik di Indonesia. Sumbawa memiliki letak geografis yang kering dan panas sehingga membuat kandungan air yang terdapat dalam madu hutan Sumbawa lebih rendah dibandingkan madu daerah lainnya (Zulhawa, 2010). Madu mengandung enzim seperti katalase, glukosa oksidase dan peroksidase serta kandungan non enzimatik seperti karotenoid, asam amino, protein, asam organik, produk reaksi Maillard, dan lebih dari 150 senyawa polifenol termasuk flavonoids, flavonols, asam fenolik, katekin, dan turunan asam sinamat. Komposisi inilah yang mendukung sifat antioksidannya. Madu hutan Sumbawa dihasilkan oleh lebah jenis *Apis dorsata*. Lebah *Apis dorsata* merupakan lebah madu lokal yang paling produktif dibandingkan lebah madu *Apis cerana* dan *Apis florea* (Sumarlin, dkk, 2014).

Menurut penelitian Santika (2016), terjadi peningkatan kadar SGPT dan SGOT, serta kerusakan hati yang dilihat dari gambaran histopatologi hepar pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi paparan plumbum dalam air pada penggunaan pipa *polyvinyl chloride*. Sedangkan pada penelitian Zukiaturrahmah (2015) terjadi penurunan kadar SGOT pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) setelah diberi ekstrak etanol propolis. Oleh karena itu, dilakukan penelitian untuk mengetahui peran madu hutan Sumbawa sebagai preventif yang dapat mengurangi jumlah radikal bebas dalam tubuh dilihat dari kadar *Serum Glutamic Pyruvic Transaminase* (SGPT) dan *Serum Glutamic Oxaloacetate Transaminase* (SGOT) dan gambaran histopatologi hepar yang diinduksi Plumbum asetat.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, dapat dirumuskan beberapa permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah preventif madu hutan Sumbawa dapat mencegah kerusakan histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi oleh Plumbum asetat?
2. Apakah preventif madu hutan Sumbawa dapat mempertahankan kadar *Serum Glutamic Pyruvic Transaminase* (SGPT) dan *Serum Glutamic Oxaloacetate Transaminase* (SGOT) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi oleh Plumbum asetat?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka penelitian ini dibatasi pada :

1. Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain *Wistar*, sejumlah 20 ekor, berumur 8-10 minggu dengan berat badan rata-rata 200 g. Hewan coba diberi perlakuan dan dipelihara selama penelitian berlangsung di Laboratorium Farmakologi FK Universitas Brawijaya. Penelitian ini telah mendapatkan Keterangan Kelaikan Etik No 79-KEP-UB.
2. Madu hutan Sumbawa diperoleh dari hutan Sumbawa, yang telah dilakukan uji Fitokimia di Laboratorium Materia Medika untuk mengetahui kandungan madu. Dosis madu yang diberikan masing-masing yaitu 25 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, dan 75 mg/kgBB, yang dilarutkan menggunakan

aquades dan diberikan secara sonde lambung 1 kali sehari selama 28 hari (pada hari ke 1 sampai hari ke 28 secara berturut-turut). Penentuan dosis madu dengan modifikasi berdasarkan pada penelitian Khadr (2007).

3. Induksi Plumbum dengan Plumbum asetat yang diperoleh dari Panadia Laboratory, Malang. Plumbum yang diberikan dalam bentuk serbuk yang dilarutkan dengan 1 mL aquades yang diberikan secara sonde lambung sebanyak 10 mg/ekor setiap hari selama 14 hari (pada hari ke 15 sampai hari ke 28 secara berturut-turut) (Suprijono dkk., 2011).
4. Variabel yang diamati dalam penelitian ini yaitu kadar *Serum Glutamic Pyruvic Transaminase* (SGPT) dan *Serum Glutamic Oxaloacetate Transaminase* (SGOT) melalui pemeriksaan serum dengan menggunakan alat *AutoAnalyzer Hematology*. Preparat histopatologi hepar diwarnai dengan pewarna *Hematoxylin Eosin* (HE).
5. Hasil data pengukuran kadar SGPT/SGOT dilakukan analisa kuantitatif menggunakan statistika dengan pola ragam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dalam Analysis of Varians (ANOVA). Kemudian untuk mengetahui apakah ada perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) atau *Tukey Test* dengan tingkat signifikansi $\alpha = 0,05$ menggunakan *Microsoft Office Excel* dan *Statistical Package for The Social Science* (SPSS) version 21.0 for windows. Sementara itu, hasil pengamatan histopatologi hepar dianalisa secara deskriptif menggunakan mikroskop cahaya.

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh preventif madu hutan Sumbawa terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi oleh Plumbum asetat.
2. Mengetahui pengaruh preventif madu hutan Sumbawa terhadap kadar *Serum Glutamic Pyruvic Transaminase* (SGPT) dan *Serum Glutamic Oxaloacetate Transaminase* (SGOT) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi oleh Plumbum asetat.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk memberikan informasi kepada masyarakat tentang pemanfaatan madu hutan Sumbawa sebagai preventif terhadap kadar *Serum Glutamic Pyruvic Transaminase* (SGPT) dan *Serum Glutamic Oxaloacetate Transaminase* (SGOT) dan gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Plumbum asetat.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Hewan coba merupakan pengujian awal yang dilakukan dalam penelitian obat atau alat baru sebelum diujikan pada manusia dan terkesan cukup aman. Hewan coba yang banyak digunakan sebagai hewan percobaan pada berbagai penelitian adalah mencit dan tikus putih. Alasan menggunakan kedua hewan coba ini karena mudah diperoleh dalam jumlah banyak, mempunyai respon yang cepat, memberikan gambaran ilmiah yang mungkin terjadi pada manusia dan harganya relatif murah (Sihombing dan Rafliizar, 2010).

Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut (Krinke, 2000):

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Subfilum : Vertebrata
Kelas : Mammalia
Ordo : Rodentia
Subordo : Odontoceti
Familia : Muridae
Genus : *Rattus*
Species : *Norvegicus*

Tikus putih dengan nama ilmiah *Rattus norvegicus* termasuk hewan nokturnal dan sosial. Faktor yang mendukung kelangsungan hidup tikus putih dengan baik dapat ditinjau dari segi lingkungan, yaitu temperatur dan kelembaban. Temperatur yang baik untuk tikus putih yaitu 19°C - 23°C, sedangkan kelembaban 40-70% (Wolfenshon dan Lloyd, 2013). Tikus putih tersertifikasi diharapkan lebih mempermudah para peneliti dalam mendapatkan hewan percobaan yang sesuai dengan kriteria yang dibutuhkan. Kriteria yang dibutuhkan oleh peneliti dalam menentukan tikus putih sebagai hewan percobaan, antara lain: kontrol pakan, kontrol kesehatan, *recording* perkawinan, jenis (*strain*), umur, bobot badan, jenis kelamin, silsilah genetik (Widiartini *et al*, 2013).



Gambar 2.1 Tikus putih (*Rattus norvegicus*) (Sirois, 2005).

2.2 Madu

Menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-3545-1994, madu adalah cairan manis yang dihasilkan oleh lebah madu berasal dari berbagai sumber nektar. Nektar adalah semacam cairan yang dihasilkan oleh kelenjar nektar tumbuhan, kaya akan pelbagai bentuk karbohidrat (3-87%), seperti sukrosa, fruktosa dan glukosa, mengandung sedikit senyawa-senyawa pengandung

nitrogen, seperti asam-asam amino, amida-amida, asam-asam organik, vitamin-vitamin, senyawa aromatik dan juga mineral-mineral. Madu yang telah dimasak mengandung fruktosa 41.0%, glukosa 35.0%, sukrosa 1.9%, dekstrin 1.5%, mineral 0.2%, air 17% dan zat-zat lain diantaranya asam amino sebanyak 3.5%.

Secara umum madu itu memiliki pengertian yaitu sebuah cairan yang kental dan berwarna kuning pucat atau kuning keemasan, yang memiliki rasa dan bau yang khas yang dihasilkan oleh lebah madu atau sejenis serangga yang disebut dengan tawon. Lebah penghasil madu ini termasuk dalam famili *apidae* dan yang paling banyak dibudidayakan di Indonesia maupun di seluruh dunia adalah jenis lebah *Apis mellifera*. Kemudian dari beberapa jenis madu yang efektif menghasilkan madu adalah lebah dengan jenis *Apis dorsata*. Lebah ini termasuk lebah Asia yang paling bagus memproduksi madu. Untuk saat ini lebah ini belum bisa dibudidayakan di ruangan tertutup. *Apis dorsata* berbadan besar dan hidup di daerah sub-tropis dan tropis Asia seperti Indonesia, Filipina, Nepal (Mustikasari, 2014).

Madu adalah bahan yang mengandung antioksidan tinggi. Sifat antioksidan dalam madu disebabkan oleh berbagai macam komponen yang ada di dalam madu, diantaranya adalah komponen flavonoid, fenolat, vitamin C, asam amino, enzim, katalase, dan lain-lain (Ensminger dkk, 1995). Dengan banyaknya komponen dalam madu yang memberikan sifat antioksidan tersebut, flavonoid adalah salah satu yang paling banyak diteliti. Flavonoid dalam madu sendiri banyak sekali unsurnya dan sangat dipengaruhi oleh

geografis, sumber nektar bunga, iklim, proses pengolahan, dan lain-lain (Estevinho, dkk. 2008). Oleh karena itu, madu yang diambil dari sumber bunga berbeda akan memberikan flavonoid berbeda, demikian juga madu dari bunga yang sama tetapi dari daerah berbeda bisa memberikan kadar flavonoid berbeda pula.

Sumbawa merupakan salah satu daerah penghasil madu terbaik di Indonesia. Terkenalnya khasiat Madu Sumbawa disebabkan sumber madu tersebut berasal dari lebah liar yang hanya bisa di temukan di hutan-hutan Sumbawa. Lebah-lebah madu di Sumbawa tidak ditenakkan melainkan langsung diambil dari hutan-hutan yang ada di Sumbawa. Makanan lebah yang alami membuat Madu Sumbawa berbeda dengan madu daerah lain. Sumbawa terkenal dengan pohon bidara atau dalam bahasa lokalnya *boan* dan dalam bahasa latinnya disebut *Ziziphus mauritiana* (Zulhawa, 2010).

2.3 Plumbum asetat

Timbal merupakan logam berat dengan lambang Pb yang berasal dari bahasa latin, yaitu *plumbum*. Timbal merupakan logam nonesensial yang terdapat di alam akibat proses alamiah dan kegiatan manusia seperti pertambangan, pembakaran batu bara, pabrik semen dan digunakan di dalam bensin (Panna, 2009). Menurut Suratno (2013), timbal (Pb) merupakan salah satu jenis logam berat yang sering juga disebut dengan istilah timah hitam. Timbal memiliki titik lebur yang rendah, mudah dibentuk, memiliki sifat kimia yang aktif sehingga biasa digunakan untuk melapisi logam agar tidak timbul

perkaratan. Timbal adalah logam yang lunak berwarna abu-abu kebiruan mengkilat dan memiliki bilangan oksidasi +2.

Nilai ambang batas kadar Pb di udara menurut Keputusan Menteri Kesehatan nomor 1405 tahun 2002 untuk ruang kerja industri adalah 0,1 mg/m³. Sedangkan menurut Centre for Disease Control Prevention kadar timbal normal dalam darah adalah <10 µg/dL. Kadar timbal dalam darah yang telah melebihi 10 µg/dL terindikasi adanya kemungkinan keracunan timbal, dimana hal tersebut merupakan kondisi kesehatan yang serius dan perlu penanganan lebih lanjut (Setyoningsih, dkk, 2016).

Ardyanto (2005) menyatakan bahwa Plumbum asetat masuk kedalam tubuh dapat melalui sistem pencernaan maupun sistem pernafasan. Setelah masuk kedalam tubuh, Pb diabsorpsi dan diangkut oleh darah ke organ-organ tubuh. Sebanyak 95% Pb yang diangkut tersebut diikat oleh eritrosit. Sebagian Pb akan terakumulasi dalam jaringan lunak yaitu hati, ginjal, otak, aorta, dan kulit. Pb yang terakumulasi didalam jaringan lunak bersifat toksik. Akumulasi Pb didalam tubuh dapat berdampak pada kerusakan sistem hematopoetik, renal, sistem gastrointestinal, sistem imun, sistem muskuloskeletal, dan sistem kardiovaskuler Lubis, dkk, (2013).

Menurut Aprilia (2015), Plumbum asetat dapat menyebabkan kerusakan hepar berdasarkan percobaan pada hewan coba. Pb dapat menyebabkan kerusakan sel dengan cara meningkatkan produksi ROS (*Reactive Oxygen Spesific*) dan peroksidasi lipid, penurunan asam lemak jenuh, dan

meningkatkan kandungan asam lemak tak jenuh pada membran sel. Peningkatan produksi ROS tersebut merupakan hasil dari stres oksidatif sel.

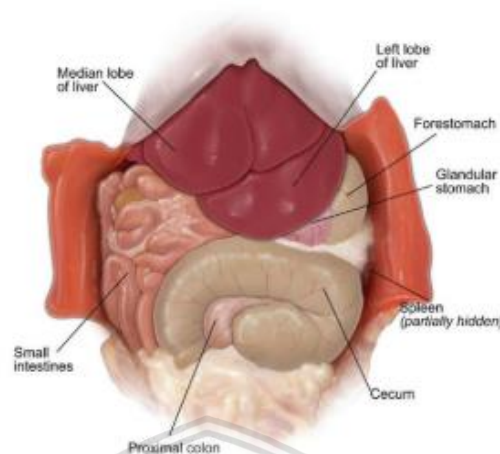
Reactive Oxygen Species (ROS) merupakan oksidan yang sangat reaktif dan mempunyai aktivitas yang berbeda. Dampak negatif senyawa tersebut timbul karena aktivitasnya, sehingga dapat merusak komponen sel yang sangat penting untuk mempertahankan integritas sel. Setiap ROS yang terbentuk dapat memulai suatu reaksi berantai yang terus berlanjut sampai ROS itu dihilangkan oleh ROS yang lain atau sistem antioksidannya (Maslachah, dkk, 2008).

2.4 Hepar

2.4.1 Struktur Hepar

Hepar merupakan salah satu organ di dalam tubuh yang mempunyai peran penting sebagai penetral racun. Hepar bertanggung jawab atas biotransformasi zat-zat berbahaya menjadi zat-zat yang tidak berbahaya. Proses ini menyebabkan sel hepar mudah sekali mengalami kerusakan baik berupa kerusakan struktur sel maupun gangguan fungsi pada hepar (Aisyah, 2015).

Hepar tikus terdiri dari empat lobus utama yang saling berhubungan. Lobus tengah dibagi menjadi kanan dan kiri oleh bifurcartio yang dalam. Lobus kiri tidak terbagi sedangkan lobus kanan terbagi secara horizontal menjadi bagian anterior dan posterior. Lobus belakang terdiri dari dua lobus berbentuk daun yang berada di sebelah dorsal dan ventral dari oesophagus sebelah kurvatura dari lambung (Syahrizal, 2008).



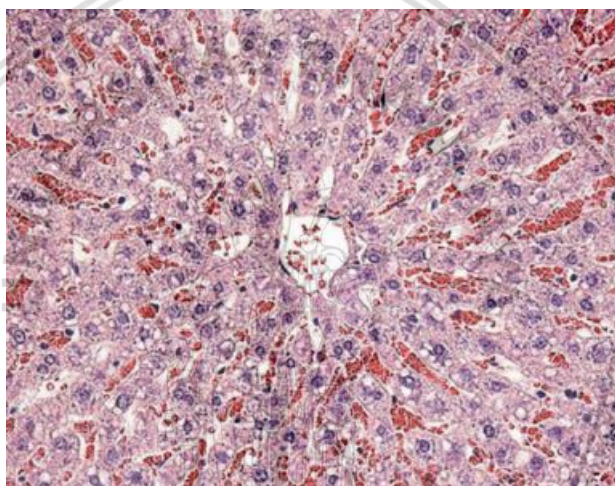
Gambar 2.2 Letak anatomi hepar tikus (Treuting, *et al*, 2018).

Setiap lobus mengandung kurang lebih satu juta lobulus yang dibentuk di sekitar vena sentralis yang bermuara ke dalam vena hepatica dan kemudian ke dalam vena cava. Lobulus terdiri dari sel hepar berbentuk heksagonal yang disebut hepatosit. Sel hepatosit merupakan unit utama pada hepar sel-sel ini berkelompok membentuk lempengan-lempengan yang saling berhubungan, diantara sel hepatosit terdapat kapiler-kapiler yang dinamakan sinusoid (Syahrizal, 2008).

Sinusoid hepar merupakan cabang vena porta dan arteri hepatica yang merupakan kapiler diantara lempengan sel hepar (Bijanti, 2011). Sinusoid merupakan pembuluh yang melebar tidak teratur dan terdiri dari satu lapisan sel-sel endotel. Sel-sel endotel yang terletak berdekatan dengan sinusoid hati dipisahkan oleh celah disse. Pada sinusoid terdapat sel kupffer. Sel kupffer memiliki peran dalam pengangkutan eritrosit yang sudah mati dan zat asing keluar dari sirkulasi (Junqueira dan Carneiro, 2011).

Auliyah (2016) menyatakan bahwa hepar mendapatkan suplai darah dari arteri hepatica yang berisi darah kaya oksigen dan dari vena porta berisi

darah deoksigenasi yang berisi nutrisi, obat-obatan, mikroba dan terkadang bahan toksin yang diabsorpsi dari saluran pencernaan traktus gastrointestinalis. Cabang dari arteri hepatica maupun vena porta membawa darah ke sinusoid yang kaya oksigen, nutrisi dan beberapa substansi toksik yang diterima oleh hepatosit. Produk yang dihasilkan oleh hepatosit dan nutrisi yang dibutuhkan oleh sel lain diekskresikan kembali ke darah yang kemudian dialirkan ke vena sentralis melewati vena hepatica.



Gambar 2.3 Struktur mikroanatomi hepar tikus (Treuting, *et al*, 2018)

2.4.2 Fisiologi Hepar

Hepar juga berperan penting dalam proses metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak (Guyton dan Hall, 2008). Menurut Rarangsari (2015), hepar juga mempunyai fungsi lain, yaitu penimbunan vitamin, besi, tembaga, konjugasi, ekskresi kelenjar adrenal dan steroid, serta detoksifikasi sejumlah zat endogen dan eksogen. Fungsi detoksifikasi sangat penting dan dilakukan oleh enzim hepar melalui proses oksidasi, reduksi, hidrolisis, atau konjugasi zat yang dapat berbahaya.

Fungsi hati dalam metabolisme karbohidrat adalah menyimpan glikogen dalam jumlah besar, mengkonversi galaktosa dan fruktosa menjadi glukosa, glukoneogenesis, dan membentuk banyak senyawa kimia yang penting dari hasil perantara metabolisme karbohidrat (Guyton dan Hall, 2008).

Fungsi hati yang berkaitan dengan metabolisme lemak, antara lain: mengoksidasi asam lemak untuk menyuplai energi bagi fungsi tubuh yang lain, membentuk sebagian besar kolesterol, fosfolipid dan lipoprotein, membentuk lemak dari protein dan karbohidrat (Guyton dan Hall, 2008).

Fungsi hati dalam metabolisme protein adalah deaminasi asam amino, pembentukan ureum untuk mengeluarkan amonia dari cairan tubuh, pembentukan protein plasma, dan interkonversi beragam asam amino dan membentuk senyawa lain dari asam amino (Guyton dan Hall, 2008).

2.5 SGOT dan SGPT

Enzim transaminase meliputi enzim *Alanine Transaminase* (ALT) atau *Serum Glutamate Pyruvic Transaminase* (SGPT) dan *Aspartate Transaminase* (AST) atau *Serum Glutamate Oxaloacetate Transaminase* (SGOT). Pengukuran aktivitas SGPT dan SGOT serum dapat menunjukkan adanya kelainan sel hati tertentu, meskipun bukan merupakan uji fungsi hati sebenarnya pengukuran aktivitas enzim ini tetap diakui sebagai uji fungsi hati (Rosida, 2016).

SGOT atau juga dinamakan AST merupakan enzim yang dijumpai dalam otot jantung dan hati, sementara dalam konsentrasi sedang dijumpai pada otot

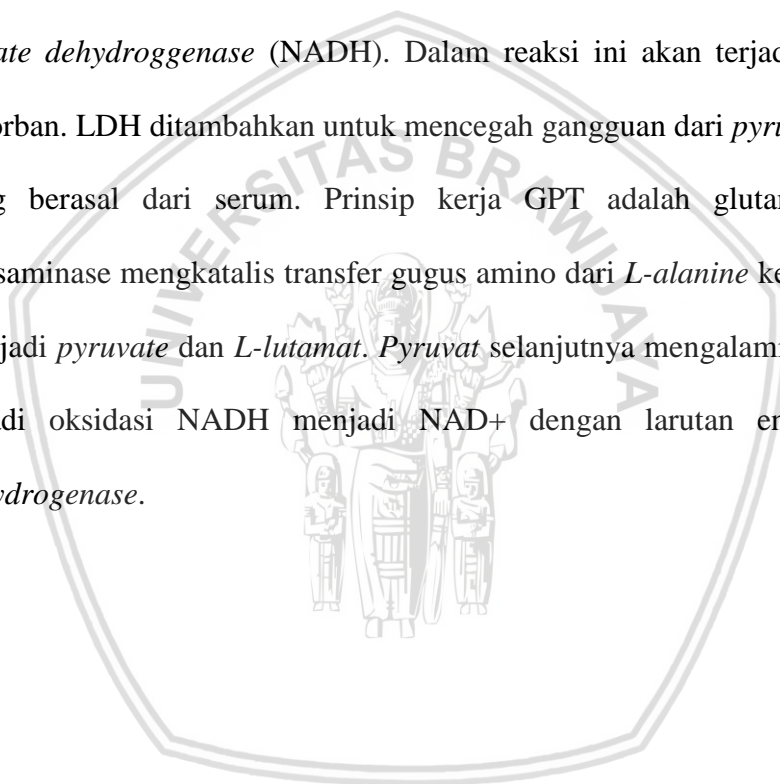
rangka, ginjal dan pankreas. Konsentrasi rendah dijumpai dalam darah, kecuali jika terjadi cedera seluler, kemudian dalam jumlah banyak dilepaskan ke dalam sirkulasi. SGPT atau sering juga disebut dengan istilah ALT merupakan enzim yang banyak ditemukan pada sel hati serta efektif untuk mendiagnosis destruksi hepatoseluler. Enzim ini dalam jumlah yang kecil dijumpai pada otot jantung, ginjal dan otot rangka. SGPT jauh dianggap lebih spesifik untuk menilai kerusakan hati dibandingkan SGOT (Nasution, dkk, 2015).

Menurut Qodriyati, dkk (2016), SGOT merupakan suatu enzim dalam tubuh yang segera terdeteksi dalam sirkulasi perifer apabila terjadi trauma atau nekrosis pada suatu jaringan. Kadar SGOT pada pemeriksaan laboratoris dapat digunakan untuk menilai seberapa luas kerusakan hati namun SGOT juga banyak ditemukan pada jaringan selain hati seperti jantung. Perubahan kadar SGOT pada umumnya sering dikaitkan dengan penyakit hati namun tidak menutup kemungkinan perubahan SGOT juga terjadi akibat penyakit jantung. Wibowo, dkk (2005), menyatakan bahwa peningkatan kadar SGOT dan SGPT akan terjadi jika adanya pelepasan enzim secara intaraseluler ke dalam darah yang disebabkan nekrosis sel-sel hati atau adanya kerusakan hati secara akut misalnya nekrosis hepatoselular atau infark miokardial.

Kadar SGPT banyak terdapat pada sitoplasma sedangkan SGOT banyak dalam mitokondria organel sel. Apabila kerusakan banyak mengenai membran sel hepar yang di dalamnya banyak terdapat sitoplasma sel, maka akan menyebabkan kenaikan pada kadar SGPT. Sedangkan apabila kerusakan

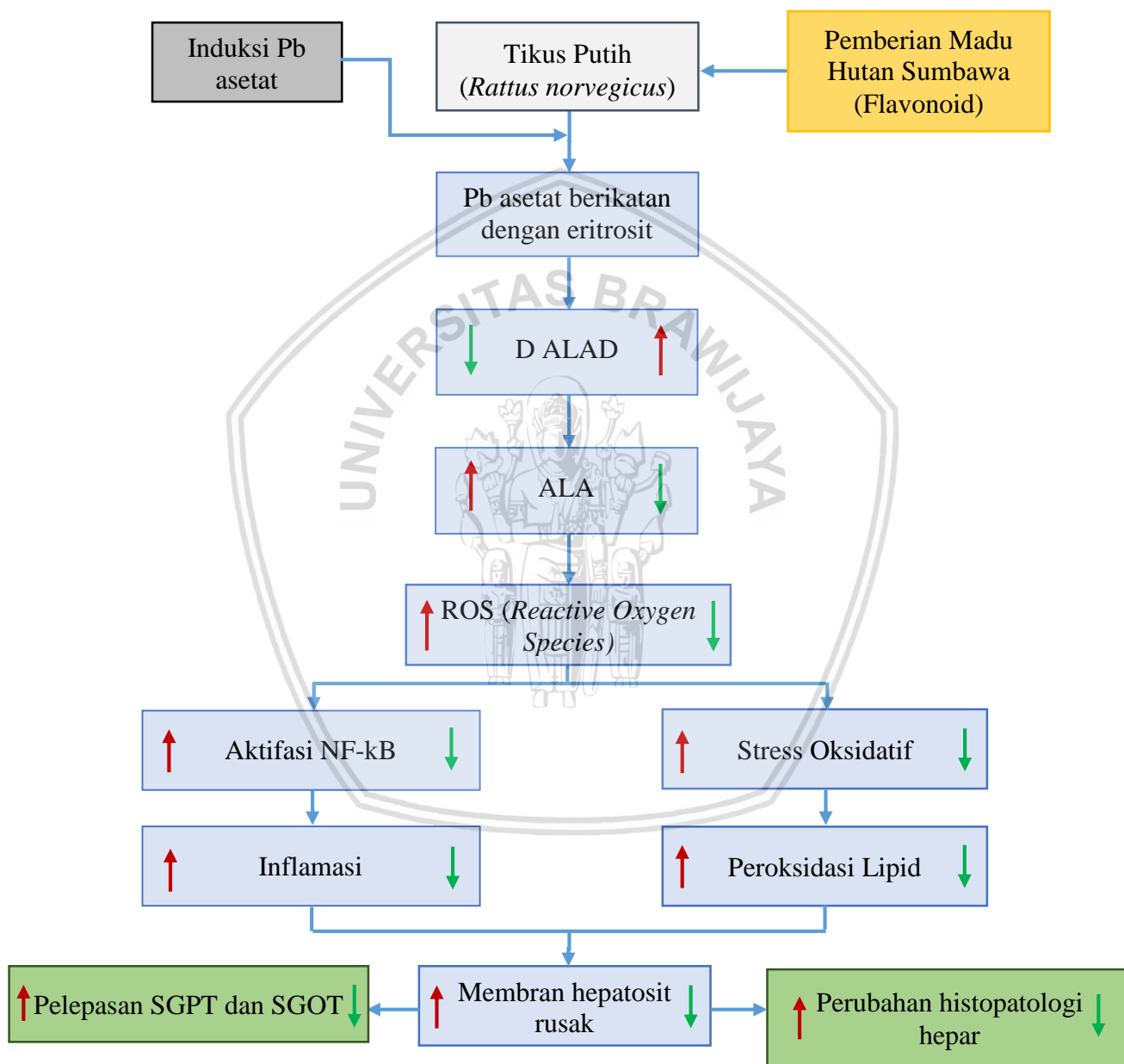
sebagian besar terletak di mitokondria pada organel sel, hal ini dapat meningkatkan kadar SGOT (Peanasari, dkk, 2015).

Menurut Sardini (2007), prinsip kerja GOT adalah *glutamic oxaloacetik transaminase* mengkatalis transfer gugus amino dari *L-aspartate* ke *oxoglutarate* menjadi *oxaloacetate* dari *L-glutamate*, *oxaloacetate* selanjutnya mengalami reduksi dan terjadi oksidasi NADH menjadi NAD⁺ dengan larutan enzim *malate dehydrogenase* (NADH). Dalam reaksi ini akan terjadi penurunan absorban. LDH ditambahkan untuk mencegah gangguan dari *pyruvat* endogen yang berasal dari serum. Prinsip kerja GPT adalah *glutamic puruvic transaminase* mengkatalis transfer gugus amino dari *L-alanine* ke *oxoglutarat* menjadi *pyruvate* dan *L-lutamat*. *Pyruvat* selanjutnya mengalami reduksi dan terjadi oksidasi NADH menjadi NAD⁺ dengan larutan enzim *lactate dehydrogenase*.










BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Teori



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual Penelitian

Keterangan :

 : Patomekanisme	 : Paparan
 : Peningkatan	 : Terapi
 : Penurunan	 : Parameter yang diamati
	 : Hewan coba

Hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberikan madu hutan Sumbawa yang mengandung senyawa flavonoid yang bersifat sebagai antioksidan dapat digunakan sebagai terapi preventif terhadap kerusakan organ tubuh yang disebabkan oleh induksi Plumbum asetat. Senyawa Plumbum bersifat sebagai sumber radikal dan juga sebagai kompetitor antioksidan enzimatis tubuh.

Plumbum asetat masuk ke dalam tubuh, setelah itu diabsorpsi dan diangkut oleh darah ke organ-organ tubuh. Sebanyak 95% plumbum yang diangkut tersebut diikat oleh eritrosit. Sebagian Plumbum asetat terakumulasi dalam jaringan lunak, yaitu hati, ginjal, otak, aorta, dan kulit. Plumbum asetat yang berikatan dengan eritrosit dapat menyebabkan gangguan dalam sintesis hemoglobin dengan menghambat aktivitas enzim D ALAD (*Amino levulinic Acid Dehydrogenase*). Penghambatan aktivitas enzim D ALAD menyebabkan adanya peningkatan akumulasi ALA (*Amino levulinic Acid*). Peningkatan kadar ALA menyebabkan pembentukan hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal superoksida (O_2^-), dan juga interaksi keduanya menghasilkan radikal hidroksil (OH), suatu radikal bebas yang paling reaktif (Ribarov *et al.*, 2001).

Plumbum asetat dapat menyebabkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) berlebih. ROS adalah molekul yang tidak berpasangan dan oleh karena itu, sangat tidak stabil dan sangat reaktif. ROS yang memiliki efek berbahaya dan

merusak adalah superoksida (O_2^-), hidroksil ($^{\cdot}OH$), dan perhidroksil (O_2H). ROS merupakan radikal bebas yang berada dalam tubuh yang apabila jumlahnya berlebih maka akan terjadi aktivasi NF- κ B yang berperan dalam proses inflamasi sel. ROS mempunyai implikasi pada aktivitas faktor transkripsi NF- κ B yang peka terhadap respon stres oksidatif. NF- κ B pada keadaan normal berada di sitoplasma dalam keadaan inaktif yang berikatan dengan inhibitor κ B (IkB), aktivasi NF- κ B akan berakibat translokasi κ B menuju nukleus dan bersifat aktif. Aktivitas NF- κ B yang merupakan suatu protein yang dapat menginduksi transkripsi beberapa jenis gen dapat merangsang inflamasi dengan menginduksi produksi mediator inflamasi. Kerusakan jaringan akibat serangan ROS dikenal dengan stres oksidatif, sedangkan faktor yang dapat melindungi jaringan terhadap ROS disebut antioksidan. Stres oksidatif menyebabkan peroksidasi lipid yaitu suatu proses dimana radikal bebas yang bersifat lipofilik dimana untuk mencapai kestabilannya akumulasi radikal bebas dapat mengikat lipid dari membran hepatosit hepar yang akan bereaksi dengan lemak, protein, dan asam nukleat sehingga terjadi kerusakan membran sel dan sel-sel hepar akan menjadi nekrosis. Stres oksidatif yang merusak sel-sel hepar akan mengaktivasi enzim *Serum Glutamic Pyruvic Transaminase* (SGPT) dan *Serum Glutamic Oxaloacetate Transaminase* (SGOT). Kerusakan sel-sel hepar menyebabkan SGPT dan SGOT diekskresi keluar dari sel-sel hepar dan didistribusikan ke peredaran darah. Peningkatan SGPT atau SGOT disebabkan perubahan permeabilitas atau kerusakan dinding sel hati sehingga digunakan sebagai penanda gangguan integritas sel hati (hepatoseluler). Enzim SGPT terdapat pada sel hati, jantung, otot dan ginjal. Porsi terbesar ditemukan pada sel hati yang

terletak di sitoplasma sel hati. SGOT terdapat di dalam sel jantung, hati, otot rangka, ginjal, otak, pankreas, limpa dan paru.

Antioksidan yang terdapat dalam Madu Hutan Sumbawa diperlukan untuk menekan aktifitas radikal bebas, kandungan antioksidan dalam Madu Hutan Sumbawa adalah flavonoid. Flavonoid bekerja dengan memberikan atom hidrogen untuk menangkap hidroksil sehingga menyebabkan radikal bebas menjadi kurang reaktif dan menurunkan ROS di dalam tubuh serta menghambat aktivasi NF-kB. Antioksidan juga dapat menurunkan kondisi stres oksidatif. Apabila stres oksidatif menurun, maka radikal bebas tidak akan sampai berikatan dengan lipid dan protein yang terkandung di dalam sel, sehingga terjadinya peroksidasi lipid akan menurun. Antioksidan yang tinggi dan mengikat radikal bebas akan menekan peroksidasi lipid oleh karena itu kerusakan pada membran hepatosit akan ditekan dan dihambat, sehingga kadar *Serum Glutamic Pyruvic Transaminase* (SGPT) dan *Serum Glutamic Oxaloacetate Transaminase* (SGOT) dalam darah akan menurun.

3.2 Hipotesis Penelitian

Dari rumusan permasalahan yang tertera, maka hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Terapi preventif Madu Hutan Sumbawa dapat menurunkan kadar *Serum Glutamic Pyruvic Transaminase* (SGPT) dan *Serum Glutamic Oxaloacetate Transaminase* (SGOT) yang diinduksi Plumbum asetat.
2. Terapi preventif Madu Hutan Sumbawa dapat mencegah kerusakan histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang induksi Plumbum asetat.

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Hewan coba diberi perlakuan dan dipelihara di Laboratorium Farmakologi FK UB, pemeriksaan kadar SGPT dan SGOT dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik FK UB, pembuatan preparat hepar dan pewarnaan HE dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi FK UB. Penelitian ini dilaksanakan dari tanggal 11 September - 15 Oktober 2017.

4.2 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental dengan desain *post test only control group* menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan eksperimental yang digunakan adalah rancangan eksperimen sederhana di mana subjek dibagi menjadi 5 kelompok. Setiap kelompok hewan coba terdiri dari masing-masing 4 ekor. Kelompok 1 adalah tikus yang tidak diberi perlakuan, hanya diberi pakan berupa ransum basal berbentuk pelet yang mengandung karbohidrat, protein, lemak, mineral, dan vitamin, serta diberikan air minum (kontrol negatif). Kelompok 2 adalah tikus yang diinduksi dengan Plumbum asetat 10 mg/ekor/hari (kontrol positif). Kelompok 3 adalah kelompok preventif 1, tikus diberi madu hutan Sumbawa dengan dosis 25 mg/kgBB dan diinduksi dengan Plumbum asetat 10 mg/ekor/hari. Kelompok 4 adalah kelompok preventif 2, tikus diberi madu hutan Sumbawa dengan dosis 50 mg/kgBB dan diinduksi dengan Plumbum asetat 10 mg/ekor/hari. Kelompok 5 adalah kelompok preventif 3, tikus diberi madu hutan Sumbawa

dengan dosis 75 mg/kgBB dan diinduksi dengan Plumbum asetat 10 mg/ekor/hari.

Tabel 4.1 Dua Arah Perlakuan dan Ulangan

Perlakuan	Ulangan				Total	Rata-rata
	1	2	3	4		
Kelompok 1 (kontrol negatif)						
Kelompok 2 (kontrol positif, induksi Plumbum asetat 10 mg/ekor/hari.						
Kelompok 3 (madu hutan sumbawa 25 mg/kg BB/hari + induksi Plumbum asetat 10 mg/ekor/hari.						
Kelompok 4 (madu hutan sumbawa 50 mg/kg BB/hari + induksi Plumbum asetat 10 mg/ekor/hari.						
Kelompok 5 (madu hutan sumbawa 75 mg/kg BB/hari + induksi Plumbum asetat 10 mg/ekor/hari.						

4.3 Penetapan Jumlah Perlakuan dan Ulangan

Estimasi besaran sampel dihitung berdasarkan rumus berikut

(Kusriningrum, 2008):

$$\begin{aligned}
 P(n-1) &\geq 15 \\
 5(n-1) &\geq 15 \\
 5n-5 &\geq 15 \\
 5n &\geq 20 \\
 n &\geq 4
 \end{aligned}$$

Keterangan :

P : jumlah perlakuan

n : jumlah pengulangan

Penelitian ini memiliki lima perlakuan, dengan dasar rumus diatas diperoleh jumlah pengulangan yakni sebanyak lebih dari atau sama dengan empat kali pengulangan. Jumlah pengulangan yang diambil yakni empat kali,

sehingga sampel yang diperoleh pada penelitian ini sebanyak 20 ekor hewan coba, tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*).

4.4 Karakteristik Sampel Penelitian

4.4.1 Kriteria Inklusi

- a. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain *wistar*, berumur 8 - 10 minggu.
- b. Berat badan rata-rata 200 g.
- c. Jenis kelamin jantan.
- d. Sehat, ditandai dengan gerakan yang aktif, tidak cacat dan matanya jernih.

4.4.2 Kriteria Eksklusi

- a. Tikus putih yang sakit dan mati saat penelitian.

4.5 Variabel Penelitian

Adapun variabel yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu :

Variabel bebas : dosis pemberian madu hutan Sumbawa dan dosis induksi Plumbum asetat.

Variabel terikat : kadar *Serum Glutamic Pyruvic Transaminase* (SGPT), *Serum Glutamic Oxaloacetate Transaminase* (SGOT) dan gambaran histopatologi hepar.

Variabel kontrol : umur, jenis kelamin, berat badan dan pakan.

4.6 Alat dan Bahan

4.6.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kandang tikus dengan panjang 25,75 cm, lebar 17,5 cm, dan tinggi 17,5 cm, tempat makan, botol minum, sonde lambung, papan bedah, *disceting set*, spuit 1 cc, spuit 3 cc, mikropipet, mikrotube, timbangan digital, *water bath*, pengaduk kaca, labu erlenmayer, *object glass*, *cover glass*, *pot sample*, kertas label, spidol, *hot plate*, *whole blood tube 3 cc*, sentrifus, mikroskop BX51, *microtome*, alat *Auto Analyzer Horiba Penta-C400*, *icebox* dan *refrigerator*.

4.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain *Wistar*, Plumbum asetat, Madu Hutan Sumbawa, aquades, Alkohol 70%, 80%, 90% dan 95%, NaCl fisiologis, xylol I, II, dan III, serum, *Para Formal Dehyde* (PFA) 4%. Parafin blok dan pewarna *hemotoxyline*, *eosin*, HCl ,6%, *Lithium carbonat* 0,5%, *entellan/canada balsam*.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Pembagian Kelompok Tikus

Tikus yang digunakan sebanyak 20 ekor, dimana nantinya terbagi dalam 5 kelompok perlakuan dan masing-masing perlakuan terdiri dari 4 ekor tikus. Pembagian kelompok adalah sebagai berikut :

1. Kelompok pertama sebagai kontrol negatif. Tikus tanpa diberikan perlakuan, hanya diberi pakan berupa ransum basal berbentuk pelet yang mengandung karbohidrat, protein, lemak, mineral dan vitamin serta air minum.

2. Kelompok kedua sebagai kontrol positif. Tikus diberi pakan, air minum dan juga induksi Plumbum asetat sebanyak 10 mg/ekor/hari selama 14 hari. Induksi diberikan pada hari ke 15 sampai ke 28.
3. Kelompok ketiga sebagai kelompok preventif pertama. Tikus diberi pakan, air minum, madu hutan Sumbawa dengan dosis 25 mg/kg BB, diberikan selama 28 hari, pada hari ke 1 sampai ke 28. Pemberian Plumbum asetat sebanyak 10 mg/ekor/hari, diberikan pada hari ke 15 sampai ke 28.
4. Kelompok keempat sebagai kelompok preventif kedua. Tikus diberi pakan, air minum, madu hutan Sumbawa dengan dosis 50 mg/kg BB, diberikan selama 28 hari, pada hari ke 1 sampai ke 28. Pemberian Plumbum asetat sebanyak 10 mg/ekor/hari, diberikan pada hari ke 15 sampai ke 28.
5. Kelompok kelima sebagai kelompok preventif ketiga. Tikus diberi pakan, air minum, madu hutan Sumbawa dengan dosis 75 mg/kg BB, diberikan selama 28 hari, pada hari ke 1 sampai ke 28. Pemberian Plumbum asetat sebanyak 10 mg/ekor/hari, diberikan pada hari ke 15 sampai ke 28.

4.7.2 Aklimatisasi

Aklimatisasi hewan coba dilakukan selama 7 hari bertujuan agar tikus menyesuaikan diri terhadap lingkungan yang baru. Tikus dikandangkan sesuai kelompok perlakuan dalam kandang dengan ukuran panjang kurang lebih 25,75 cm, lebar 17,5 cm, dan tinggi 17,5 cm. Tikus diberikan ransum basal berbentuk pelet yang mengandung karbohidrat, protein, lemak, mineral dan vitamin (AOAC, 2005) dan air minum diberikan secara *ad libitum* serta

dipelihara pada ruang dengan suhu 26-27°C dengan kelembapan 50 - 60% (Lina dkk., 2003).

4.7.3 Pemberian Madu Hutan Sumbawa

Pemberian madu hutan Sumbawa dilakukan secara sonde lambung. Kelompok perlakuan satu diberikan dosis sebanyak 25 mg/kgBB, kelompok perlakuan kedua diberikan dosis sebanyak 50 mg/kgBB dan kelompok perlakuan ketiga diberikan dosis sebanyak 75 mg/kgBB, diberikan selana 28 hari berturut-turut pada hari ke 1 sampai dengan hari ke 28. Pemberian madu secara lengkap dijelaskan pada **Lampiran 2**.

4.7.4 Pemberian Plumbum Asetat

Pemberian Plumbum asetat pada tikus dilakukan dengan sonde lambung. Plumbum yang diberikan yaitu Pb asetat yang berbentuk serbuk putih yang dilarutkan dengan 1 mL aquades. Kelompok kontrol positif, diinduksi dengan Pb asetat sebanyak 10 mg/ekor/hari selama 14 hari, pada hari ke 15 sampai dengan hari ke 28. Kelompok perlakuan satu, dua dan tiga diinduksi dengan Pb asetat sebanyak 10 mg/ekor/hari selama 14 hari, pada hari ke 15 sampai dengan hari ke 28. Pemberian dosis tersebut berdasarkan penelitian sebelumnya Suprijono dkk (2011), dimana pemberian Pb asetat dengan dosis 10 mg/ekor/hari dapat menyebabkan peningkatan degenerasi dan nekrosis pada sel hepar. Pemberian Plumbum asetat secara lengkap dijelaskan pada **Lampiran 3**.

4.7.5 Pengambilan Hepar dan Darah Tikus

Pengambilan hepar tikus dilakukan pada hari ke 29. Pertama, tikus dieuthanasia dengan cara dislokasi leher, kemudian diposisikan rebah dorsal

dan diletakkan dipapan bedah. Lalu dibedah dan lakukan pengambilan darah secara langsung melalui jantung dengan menggunakan spuit 10 cc. Darah yang tertampung dalam spuit dimasukkan dalam tabung *venoject*, kemudian disentrifus untuk mendapatkan serum. Setelah itu, organ dikeluarkan satu persatu termasuk hepar, kemudian dicuci menggunakan *Natrium chlorida* (NaCl) 0,9%, untuk menghilangkan darah yang masih tersisa. Kemudian hepar difiksasi untuk mencegah kerusakan pada jaringan, menghentikan proses metabolisme, mengawetkan komponen histologi dengan dimasukkan ke dalam larutan *Paraformaldehyde* (PFA) 4%. Pengambilan organ hepar dan darah tikus secara lengkap dijelaskan pada **Lampiran 4** dan **Lampiran 6**.

4.7.6 Pembuatan Preparat Histopatologi Hepar

Organ hepar yang sudah difiksasi dalam *Paraformaldehyde* (PFA) 4% kemudian melalui tahap berikut :

- a. *Dehidrasi*, yaitu untuk mengeluarkan air dari jaringan agar jaringan tersebut dapat diisi dengan parafin sehingga jaringan dapat diiris tipis. Kemudian hepar dimasukkan dalam alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, masing-masing selama 2 jam.
- b. *Clearing*, untuk membuat jaringan hepar jernih dan transparan, dimasukkan dalam xylol I selama 1 jam, xylol II selama 30 menit, dan xylol III selama 30 menit.
- c. *Embedding*, yaitu proses memasukkan jaringan hepar ke dalam parafin cair untuk dibuat blok yang padat. Jaringan dimasukkan dalam parafin yang ditempatkan dalam inkubator bersuhu 58-60°C.

- d. *Sectioning*, yaitu proses pemotongan jaringan hepar dengan *microtome*. Hepar dalam blok parafin dipotong dengan ketebalan 4-6 μm agar tembus cahaya pada saat diperiksa dengan menggunakan mikroskop. Kemudian direndam dalam *water bath* untuk menghilangkan kerutan halus pada preparat dengan suhu 40°C, dikeringkan pada suhu 26-27°C.
- e. *Mounting*, yaitu proses penempelan jaringan ke *object glass*. Jaringan hepar ditempelkan pada *object glass*, lalu dikeringkan di atas *hot plate* 38-40°C sampai kering kemudian disimpan pada inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam, lalu preparat hepar siap melalui tahap pewarnaan (Wati dkk., 2013). Pembuatan preparat histopatologi hepar secara lengkap dapat dilihat pada **Lampiran 4**.

4.7.7 Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE)

Pewarnaan preparat dengan *Hematoxylin Eosin* (HE) untuk mewarnai jaringan. Zat warna *Hematoxylin* untuk memberi warna biru pada inti sel dan *Eosin* memberi warna merah muda pada sitoplasma sel. Berikut merupakan tahapan pewarnaan yang dilakukan :

- Deparafinasi*, yaitu untuk menghilangkan dan melarutkan parafin yang terdapat pada jaringan. Preparat dimasukkan dalam xylol I dan II masing-masing selama 5 menit.
- Rehidrasi*, yaitu untuk memasukkan air ke dalam jaringan. Air akan mengisi rongga-rongga jaringan yang kosong. Preparat dimasukkan dalam alkohol 95%, 90%, 80%, 70%, masing-masing selama 5 menit kemudian dicuci dengan air mengalir selama 1 menit.

- c. Pewarnaan I, untuk memberi warna biru pada inti dan sitoplasma jaringan. Preparat dimasukkan dalam *Hematoxylin* selama 5 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir selama 1 menit.
- d. *Differensiasi*, untuk mengurangi warna biru yang pekat pada inti sel dan menghilangkan warna biru pada sitoplasma. Preparat dimasukkan dalam *Hydrochloric acid* (HCl) 0,6% selama 1 menit. Kemudian dicuci dengan air mengalir selama 1 menit.
- e. *Blueing*, untuk memperjelas warna biru pada inti sel. Preparat dimasukkan dalam *Lithium carbonat* 0,5% selama 3 menit. Kemudian dicuci dengan air mengalir selama 1 menit.
- f. Pewarnaan II, untuk memberi warna merah muda pada sitoplasma. Preparat dimasukkan dalam *Eosin* selama 3 menit.
- g. *Dehidrasi*, untuk menghilangkan air dari jaringan. Preparat dimasukkan dalam alkohol 80%, 90%, 100%, masing-masing selama 5 menit.
- h. *Clearing*, untuk membuat jaringan menjadi jernih dan transparan. Preparat dimasukkan dalam xylol I dan II selama 1 menit. Ditunggu sampai kering.
- i. *Mounting*, untuk mengawetkan jaringan yang telah diwarnai. Preparat diberi *Entellan/canada balsam* dan ditutup dengan *cover glass* (Jusuf, 2009). Pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) secara lengkap dijelaskan pada **Lampiran 5**.

4.7.8 Pengamatan Histopatologi

Pengamatan histopatologi hepar dilakukan secara kualitatif dengan menggunakan mikroskop cahaya *Olympus BX51* dengan perbesaran 400x. Pengambilan gambar histopatologi hepar menggunakan kamera digital. Pengamatan histopatologi hepar meliputi perubahan struktur sel, degenerasi sel, dan nekrosis sel.

4.7.9 Pengukuran Kadar SGPT dan SGOT

Sampel darah dikoleksi dari jantung tikus, kemudian dimasukkan ke dalam *whole blood tube* 3 cc (*plain tube*). Setelah itu disentrifus dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Serum diambil dengan menggunakan mikropipet sebanyak 10 μ l dan dimasukkan ke dalam mikrotube.

Pengukuran kadar SGPT dan SGOT dilakukan dengan cara menggunakan alat *Auto Analyzer Horiba Penta-C400*. Menurut Febianty, dkk, (2010) metode yang dianjurkan oleh *Internatinal Committee for Standardization in Hematology* metode Sianmethemoglobin (*autoanalyzer*), yaitu dengan menghitung secara otomatis kadar pada sampel serum, metode ini banyak digunakan dan mempunyai standar yang stabil.

4.8 Analisa Data

Data penelitian berupa pengukuran kadar SGPT dan SGOT dengan metode Sianmethemoglobin menggunakan alat *Auto Analyzer Horiba Penta-C400*. Selanjutnya, dilakukan analisa kuantitatif dengan dianalisi menggunakan statistika dengan pola ragam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dalam Analysis of Varians (ANOVA) sebagai berikut.

Tabel 4.2 Pola Analisa Ragam RAL

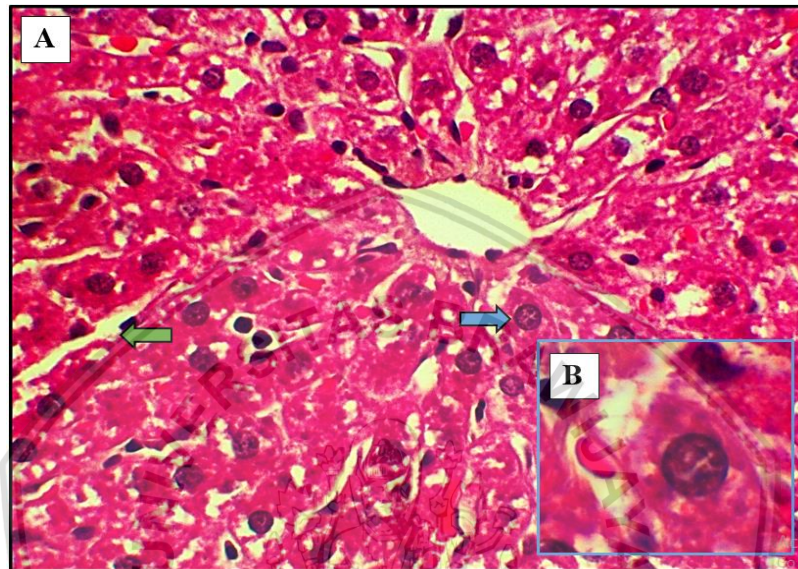
SK	DB	JK	KT	F Hitung	F Tabel
					5%

Perlakuan					
Kontrol -					
Kontrol +					
Madu hutan Sumbawa 25 mg/kg BB					
Madu hutan Sumbawa 50 mg/kg BB					
Madu hutan Sumbawa 75 mg/kg BB					
Galat p(n-1)					
Total (np-1)					

Kemudian untuk mengetahui apakah ada perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) atau *Tukey Test* dengan tingkat signifikansi $\alpha = 0,05$ menggunakan *Microsoft Office Excel* dan *Statistical Package for The Social Science (SPSS) version 21.0 for windows*. Sementara itu, hasil pengamatan histopatologi hepar dianalisa secara deskriptif menggunakan mikroskop cahaya

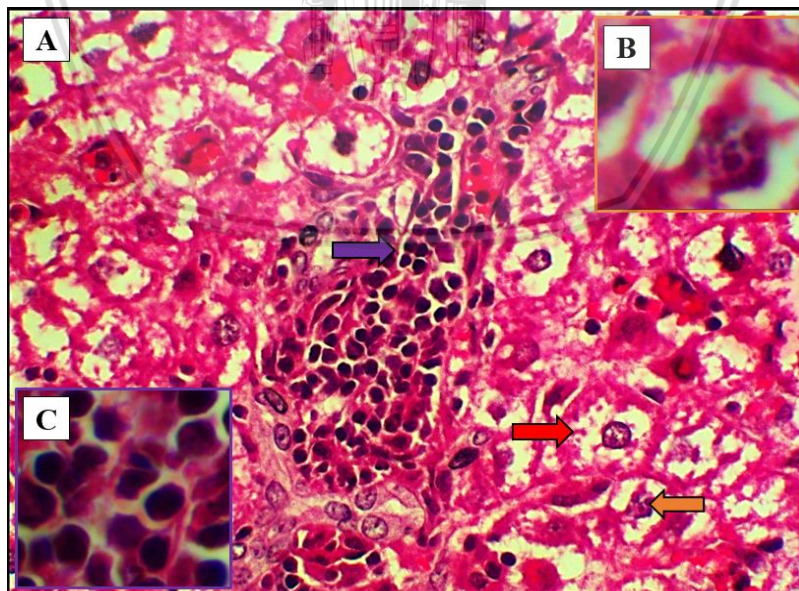
BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Putih yang Diinduksi Plumbum asetat dan Diberi Madu Hutan Sumbawa sebagai Prefentif



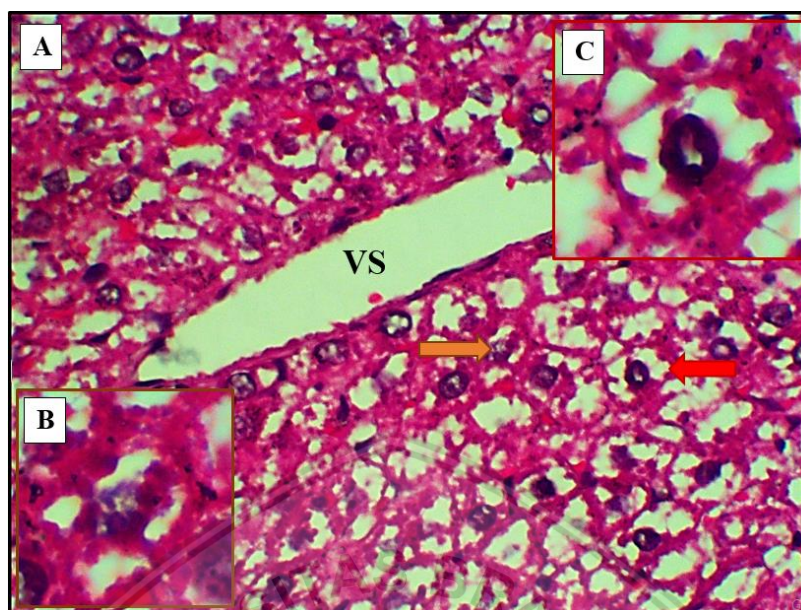
Gambar 5.1 Histopatologi organ hepar tikus putih kontrol negatif.

Keterangan: (→) Sinusoid; (→) Hepatosit normal; (VS) Vena sentralis; (A) Perbesaran 40X; (B) Perbesaran 100X hepatosit normal.



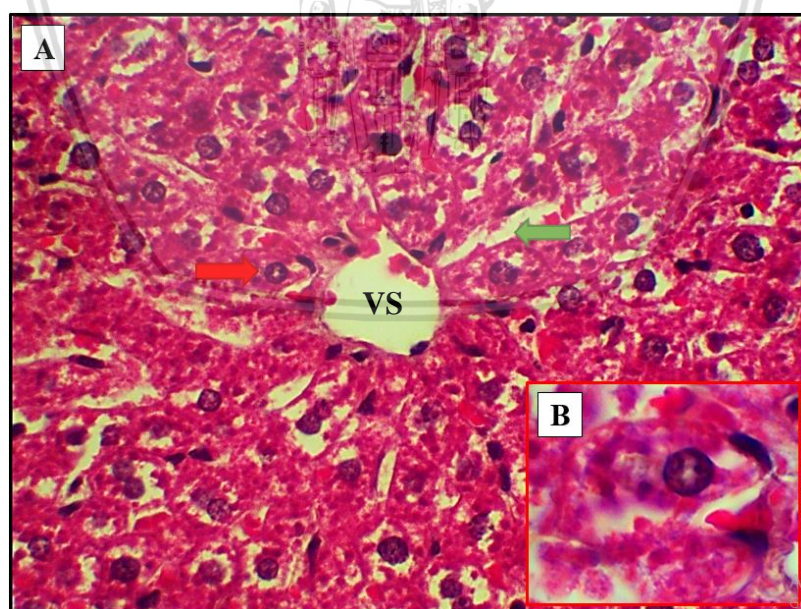
Gambar 5.2 Histopatologi organ hepar tikus putih kontrol positif.

Keterangan: (→) Sel radang; (→) Degenerasi hidrofik; (→) Inti karioreksis; (A) Perbesaran 40X; (B) Perbesaran 100X degenerasi hidrofik dan inti karioreksis; (C) Perbesaran 100X sel radang.



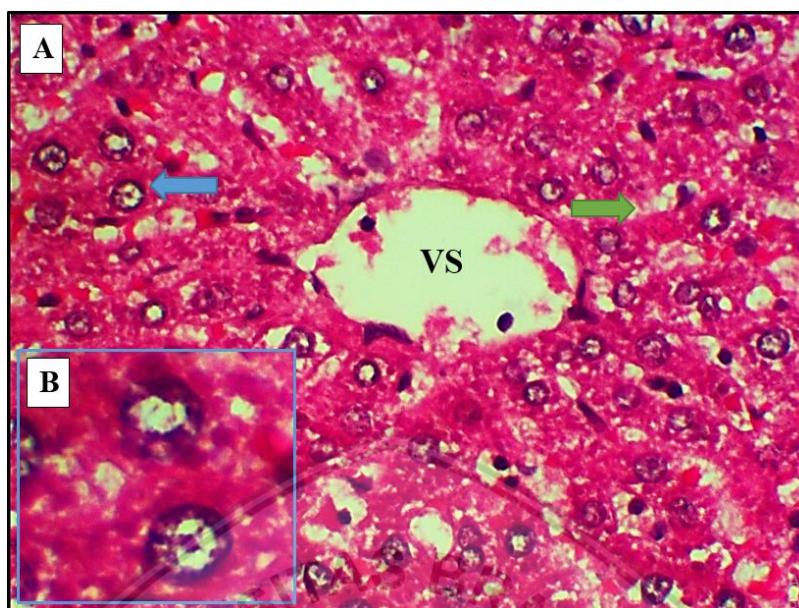
Gambar 5.3 Histopatologi organ hepar tikus putih yang diberi madu hutan Sumbawa dengan dosis 25 mg/kg BB.

Keterangan: (→) Degenerasi hidrofik; (→) Inti karioreksis; (VS) Vena sentralis; (A) Perbesaran 40X; (B) Perbesaran 100X degenerasi hidrofik dan inti karioreksis.



Gambar 5.4 Histopatologi organ hepar tikus putih yang diberi madu hutan Sumbawa dengan dosis 50 mg/kg BB.

Keterangan: (→) Sinusoid; (→) Degenerasi hidrofik; (VS) Vena sentralis; (A) Perbesaran 40X; (B) Perbesaran 100X degenerasi hidrofik.



Gambar 5.5 Histopatologi organ hepar tikus putih yang diberi madu hutan Sumbawa dengan dosis 75 mg/kg BB (pewarnaan HE 400X)

Keterangan: (→) Sinusoid; (→) Hepatosit normal; (VS) Vena sentralis; (A) Perbesaran 40X; (B) Perbesaran 100X hepatosit normal.

Pengamatan pada histopatologi hepar didapatkan hasil dari pewarnaan *Hematoxyline eosin* (HE) dengan menggunakan perbesaran 40X dan 100X.

Histopatologi hepar pada kelompok kontrol negatif menunjukkan inti sel hepar yang berwarna ungu dan sitoplasma yang berwarna merah muda serta batas inti sel dan membrane sel terlihat jelas. Sinusoid hepar juga tidak menunjukkan adanya pelebaran yang menunjukkan bahwa tidak ada aktivitas kerusakan sel akibat induksi Plumbum asetat (**Gambar 5.1**). Hal ini menunjukkan kondisi normal yang dilihat dari segi mikroskopis hepar. Januar, dkk (2014) menyatakan bahwa gambaran mikroskopis pada jaringan hati yang normal memiliki sel hepatosit yang terlihat jelas, inti bulat, letaknya sentralis, dan sitoplasma berwarna merah homogen. Dinding sel berbatas tegas dan sinusoid tampak jelas serta vena sentralis sebagai pusat lobulus tampak berbentuk bulat dan kosong.

Hasil kelompok positif pada **Gambar 5.2** yang diinduksi Plumbum asetat dengan dosis 10 mg/ekor/hari melalui sonde lambung menunjukkan gambaran histopatologi hepar yang ditandai dengan adanya sel radang, degenerasi hidrofik, nekrosis karioreksis, dan sinusoid yang tidak terlihat. Menurut Prasetiawan (2013), kerusakan hepar akibat senyawa kimia ditandai dengan lesi biokimiawi yang memberikan rangkaian perubahan fungsi dan struktur. Beberapa perubahan struktur hepar akibat senyawa kimia yang dapat tampak dalam pengamatan mikroskopis seperti radang, fibrosis, degenerasi, dan nekrosis.

Plumbum asetat adalah garam organik dengan rumus kimia $Pb(C_2H_3O_2)_2$ akan terhidrolisis bila terlarut dalam air. Proses hidrolisis tersebut membentuk ion positif dan ion negatif. Pb akan terionisasi dalam larutannya menjadi kation yaitu Pb^{2+} dan anion $C_2H_3O_2^-$. Kation Pb^{2+} yang memiliki atom bebas pada lapisan luarnya. Pb^{2+} berubah menjadi radikal bebas karena atom yang bebas tersebut berusaha untuk melengkapi lapisan luar agar lebih stabil dengan mengikat molekul lain dari organ tubuh. Pb^{2+} yang berada di hepar akan berusaha melengkapi lapisan luarnya dengan mengikat rantai PUFA (*Polyunsaturated Fatty acid*) membran sel hepar menginisiasi terjadinya peroksidasi lipid membran sel. Peroksidasi ini akan mempengaruhi fluiditas membran, *cross-linking* membran, serta struktur dan fungsi membran (Daulay, 2011).

Degenerasi hidropik merupakan degenerasi yang bersifat reversibel. Pada degenerasi hidropik terlihat adanya vakuola berisi air dalam sitoplasma

yang tidak mengandung lemak atau glikogen. Pb^{2+} menyebabkan gangguan transportasi aktif yang menyebabkan sel tidak mampu memompa ion Na^+ ke dalam sel sehingga konsentrasi Na^+ keluar dari sel dan menyebabkan perubahan morfologis yaitu sel menjadi bengkak (Insani, 2015). Sedangkan menurut Trijayanti (2010), timbal yang bersifat toksik menyebabkan masuknya cairan ekstrasel ke intrasel dalam jumlah banyak. Hal ini dapat terjadi apabila membran sel terganggu permeabilitasnya, sehingga memudahkan masuknya molekul air dari ekstrasel ke intrasel secara berlebihan. Masuknya air biasanya akan membentuk vakuola-vakuola jernih, kecil dan banyak. Selanjutnya vakuola tersebut dapat bersatu menghasilkan vakuola yang lebih besar atau vakuola tunggal yang mengisi sitoplasma. Perubahan ini biasanya diikuti dengan sel mengalami pembengkakan dan sitoplasma tampak keruh.

Sinusoid yang mengalami penyempitan diakibatkan oleh membran sel hepatosit yang mengalami pembengkakan. Pembengkakan membran sel terjadi karena adanya degenerasi hidropik. Sulistiyanto (2004) menyatakan bahwa sinusoid dapat mengalami penyempitan karena terdesak oleh perlemakan sel hepar pada lobulus. Auliyah (2016) juga menyatakan bahwa pembengkakan sel menyebabkan tekanan pada mikrovaskuler organ seperti sinusoid hepar, sehingga menyebabkan celah disse menyempit. Sehingga hal ini juga dapat terjadi pada kasus degenerasi hidropik yang terjadi pada membran sel hepatosit akibat dari masuknya cairan ekstrasel ke dalam intrasel.

Menurut Andreas (2015), proses kerusakan hepatosit dimulai dari proses degenerasi. Degenerasi yang tampak terutama adalah degenerasi hidropik yang

dengan mudah ditemukan di kelompok kontrol positif pada **Gambar 5.2**. Proses degenerasi tersebut diduga akibat peningkatan radikal bebas di jaringan hati. Salah satu perubahan yang diinduksi oleh radikal bebas yaitu perubahan sifat membran sel dan membran sitoplasmik unsur sel seperti mitokondria dan lisosom yang disebabkan peroksidasi lipid. Setelah merusak membran sel, efek toksik juga dapat mencapai inti dan merusaknya, yang mengakibatkan struktur sel menjadi tidak normal dan akhirnya menjadi nekrosis. Berbeda dengan apoptosis, sel yang mengalami nekrosis akan melepaskan berbagai mediator yang akan memulai proses inflamasi dan menarik datangnya sel-sel radang (Andreas, 2015).

Selain adanya degenerasi hidropik, juga terdapat sel radang yang nampak pada gambaran histopatologi hepar. Peradangan atau inflamasi pada hepar adalah adanya kerusakan hepatosit yang disertai sel radang akut atau kronis di hepar. Jika hepatosit mengalami kerusakan, makrofag pada hepatosit, yaitu sel Kupfer akan dengan cepat memfagosit sel yang mati, yang kemudian akan membentuk kumpulan-kumpulan sel radang di parenkim yang normal (Purwatari, 2016). Menurut Mulyadi, dkk (2015), pada hepatitis, konsep pembagian zona mikroskopis hepar sangat berperan dalam menginterpretasikan hubungan efek toksik dengan pola peradangan. Hepar memiliki 3 zona, yaitu zona 1, zona yang terdekat dengan arteri hepatica dan vena porta, zona 2 yaitu zona intermediet, dan zona 3, zona yang berbatasan dengan vena sentralis. Pada pemeriksaan mikroskopis (**Gambar 5.2**), didapatkan infiltrasi sel radang terdapat di vena porta, karena sel radang

muncul pertama kali pada vena porta. Semakin lama paparan toksik terjadi, maka infiltrasi sel radang berdifusi dan menyebar dari daerah porta ke daerah sentralis.

Plumbum asetat dapat menyebabkan terjadinya peradangan karena Plumbum asetat memicu perubahan permeabilitas ketika terjadi inflamasi. Sifat Plumbum asetat yang lipofilik menyebabkan plumbum cepat bereaksi dengan lipid bilayer pada permukaan sel sehingga mengalami kerusakan. Sel rusak akan menginduksi terjadinya peradangan (Adikara, 2013).

Suprijono (2011) menyatakan apabila senyawa racun yang masuk besar sehingga bersifat toksis pada hepar, maka akan menimbulkan degenerasi jaringan hepar. Kemudian terjadi nekrosis yang dapat merusak jaringan hepar. Plumbum dalam darah dapat menyebabkan kerusakan berbagai organ termasuk hepar. Hal ini diakibatkan oleh kemampuan Plumbum asetat untuk membentuk radikal bebas dalam tubuh serta menurunkan kemampuan antioksidan sehingga dengan sendirinya akan terjadi stres oksidatif. Selain itu dari berbagai penelitian diketahui bahwa Plumbum asetat secara langsung dapat menimbulkan terjadinya kerusakan dalam proses biokimia normal sistem hepatobilier dan juga dapat menyebabkan nekrosis pada hepatosit.

Nekrosis yang terlihat pada kelompok kontrol positif merupakan nekrosis karioreksis. Menurut Irgantara (2015), awalnya nekrosis terjadi pada usus dan limfoglandula mesenterika, kemudian menjadi nekrosis fokal pada organ lainnya termasuk hepar. Mekanisme terjadinya nekrosis terjadi pada saat jaringan mengalami hipoksia atau masuknya benda asing yang dianggap racun

maka mitokondria akan mengalami luka sehingga mengakibatkan ATP turun dan pompa Na^+ dan K^+ terganggu. Na^+ masuk sel yang mengakibatkan lisosom pecah, mengeluarkan enzim hidrolitik sehingga melarutkan sel. Pada **Gambar 5.2** dan **Gambar 5.3** menunjukkan bahwa sel mengalami nekrosis, terdapat perubahan yang tampak pada gambar, yaitu terjadinya karioreksis. Rohmatin *et al* (2015) menyatakan bahwa tanda jelas kematian sel terdapat dalam intinya. Biasanya sel yang telah mati intinya menyusut, tampak lebih padat, batasnya tidak teratur, dan berwarna gelap (hiperkromatik), proses ini dinamakan piknosis dan intinya disebut piknotik. Kemungkinan lain, inti dapat hancur, robek dan meninggalkan pecahan-pecahan zat kromatik yang tersebar di dalam sel, proses ini disebut karioreksis. Pada beberapa keadaan, inti sel yang mati kehilangan kemampuan untuk diwarnai sehingga menjadi pucat dan menghilang begitu saja atau tidak nyata, proses ini disebut kariolisis.

Kelompok tikus putih yang diberi madu hutan Sumbawa dengan dosis 25 mg/kg BB menunjukkan gambaran mikroskopis hepar yang tidak jauh beda dengan kelompok kontrol positif. Pada **Gambar 5.3** menunjukkan adanya degenerasi hidrofik, nekrosis karioreksis, dan sinusoid tidak terlihat. Gambaran yang terlihat menunjukkan bahwa pada dosis ini, kerusakan pada membran sel akibat paparan Plumbum asetat tidak dapat memperbaiki struktur hepatosit kembali normal.

Kelompok tikus putih yang diberi madu hutan Sumbawa dengan dosis 50 mg/kg BB menunjukkan gambaran mikroskopis hepar yang tidak jauh beda dengan kelompok tikus putih yang diberi madu hutan Sumbawa dengan dosis

25 mg/kg BB namun terjadi peningkatan perbaikan pada sel. Pada **Gambar 5.4** menunjukkan adanya degenerasi hidrofik. Namun, pada kelompok ini sinusoid sudah mulai terlihat.

Kelompok tikus putih yang diberi madu hutan Sumbawa dengan dosis 75 mg/kg BB menunjukkan gambaran mikroskopis hepar yang tidak jauh berbeda dengan kelompok tikus putih kontrol negatif. Pengamatan yang terlihat pada **Gambar 5.5** menunjukkan hepatosit yang memiliki inti bulat berwarna ungu dan sitoplasma yang berwarna merah muda. Kondisi hepar pada kelompok tikus putih ini menunjukkan adanya perbaikan, tidak terlihat adanya degenerasi hidrofik dan infiltrasi sel radang, namun pada sinusoid tidak sepenuhnya terlihat. Walaupun penurunan kerusakan belum mencapai gambaran histopatologi normal, namun dari hasil penelitian ini sudah mengalami perbaikan. Oleh karena itu, pemberian madu hutan Sumbawa dosis 75 mg/kg BB dapat menekan dan menurunkan tingkat kerusakan pada sel yang diakibatkan adanya paparan Plumbum asetat.

Pemberian madu hutan Sumbawa sebagai preventif dapat mengurangi dan menetralkan radikal bebas di dalam tubuh. Madu hutan Sumbawa merupakan antioksidan yang memiliki kandungan senyawa polifenol seperti flavonoid. Menurut Fahmi (2015), flavonoid mampu menghambat reaksi oksidasi melalui mekanisme *radical scavenging* dengan menyumbangkan satu elektron pada elektron yang tidak berpasangan dalam radikal bebas sehingga banyaknya radikal bebas menjadi berkurang. Flavonoid juga diduga berpengaruh dalam menghambat kerusakan hati dengan mengikat radikal

bebas sehingga dampaknya terhadap hati berkurang. Radikal bebas menyebabkan gangguan integritas membran hepatosit sehingga menyebabkan keluarnya berbagai enzim dari hepatosit sehingga hal ini menjadi indikator terjadinya kerusakan hati. Menurut Surya *et, al* (2009), mekanisme kerja senyawa antioksidan berlangsung dengan cara memberikan elektronnya atau menghentikan reaksi radikal bebas, sehingga dapat mencegah reaksi rantai berlanjut dari peroksidasi lemak dan juga protein akibat dampak radikal bebas. Dengan demikian, kerusakan sel lebih lanjut dapat dicegah.

5.2 Kadar Serum Glutamic Piruvic Transaminase (SGPT) dan Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase (SGOT) dalam Darah Tikus Putih yang Diinduksi Plumbum asetat dan Diberi Madu Hutan Sumbawa sebagai Preventif

Pengukuran kadar Serum Glutamic Piruvic Transaminase (SGPT) dan Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase (SGOT) bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian madu hutan Sumbawa dalam menurunkan kadar SGPT dan SGOT dalam darah tikus putih. SGPT merupakan enzim yang terdapat dalam konsentrasi tinggi dalam sel hati, tetapi juga terdapat dalam konsentrasi sedang dalam sel ginjal, sel jantung dan sel otot rangka. SGPT merupakan enzim yang berada di dalam sitoplasma, sedangkan SGOT merupakan enzim yang berada di dalam mitokondria sel hepatosit. Hasil pengukuran kadar SGPT dapat dilihat pada **Tabel 5.1** dan **Lampiran 11**.

Tabel 5.1 Kadar Rata-Rata SGPT dalam Darah Tikus Putih

Kelompok Perlakuan	Kadar SGPT (μ /L) Rata—rata \pm SD	Kadar SGPT (%)	
		Peningkatan terhadap K-	Penurunan terhadap K+
Kontrol negatif (K-)	20,75 \pm 1,32 ^a	-	-

Kontrol positif (K+)	39,25 ± 2,22 ^d	89,15	
P1 Preventif 25 mg/kg BB madu hutan Sumbawa	36,12 ± 1,18 ^d	-	7,97
P2 Preventif 50 mg/kg BB madu hutan Sumbawa	30,15 ± 0,06 ^c	-	23,18
P3 Preventif 75 mg/kg BB madu hutan Sumbawa	26,52 ± 1,63 ^b	-	48,00

Keterangan: Notasi yang berbeda (a, b, c, dan d) menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($P < 0,05$) antar kelompok perlakuan

Hasil ANOVA kadar SGPT pada tikus perlakuan menunjukkan adanya perbedaan signifikan (**Lampiran 9**). Kelompok tikus kontrol negatif berbeda signifikan dengan kelompok tikus kontrol positif. Kelompok tikus kontrol negatif memiliki kadar SGPT terendah dengan rata-rata kadar SGPT sebesar 20,75 μL karena kelompok kontrol negatif hanya diberi pakan normal sedangkan kelompok tikus kontrol positif memiliki kadar SGPT tertinggi dengan rata-rata kadar SGPT 39,25 μL , dikarenakan tikus kontrol positif diinduksi Plumbum asetat yang akan memicu terbentuknya radikal bebas sehingga kadar SGPT dalam darah akan meningkat. Nilai rata-rata kadar SGPT pada kelompok kontrol negatif dan kontrol positif dijadikan sebagai acuan dalam keberhasilan pemberian madu hutan Sumbawa sebagai preventif akibat induksi Plumbum asetat pada tikus putih.

Hasil analisa dilanjutkan dengan uji *Tukey*. Kelompok kontrol negatif menunjukkan rata-rata kadar SGPT sebesar 20,75 μL . Menurut Sari, *et al* (2015), kadar normal SGPT tikus putih adalah 17,5-30,2 μL . hal ini menunjukkan bahwa kadar SGPT kelompok kontrol negatif masih berada di bawah batas normal.

Berdasarkan analisis statistika diketahui bahwa induksi Plumbum asetat dapat meningkatkan kadar SGPT secara signifikan ($P < 0,05$). Rata-rata kadar SGPT pada kelompok kontrol positif sebesar $39,25 \mu\text{L}$ mengalami peningkatan sebesar 89,15% dari kelompok kontrol negatif. Hal ini dikarenakan adanya peningkatan stres oksidatif akibat dari paparan Plumbum asetat. Enzim SGPT merupakan enzim spesifik untuk mendeteksi kerusakan hepar. Enzim ini secara normal terdapat dalam sitoplasma sel hati, akan tetapi enzim ini akan keluar ke cairan ekstraseluler apabila ada gangguan permeabilitas membran. Kebocoran membran dapat terjadi akibat adanya konsentrasi yang tinggi antara lingkungan ekstraseluler dan intraseluler (Santika, 2015). Uji *Tukey* menunjukkan bahwa kadar SGPT kelompok kontrol positif berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif.

Hal ini dikarenakan Plumbum dapat menyebabkan peningkatan produksi ROS dan secara langsung menekan sistem antioksidan tubuh dan menimbulkan peroksidasi lipid. ROS dapat bereaksi dan menyebabkan kerusakan pada banyak molekul di dalam sel. Fosfolipid yang menjadi unsur utama dalam penyusun membran plasma dan membran organela sel seringkali menjadi subjek dari peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid adalah suatu reaksi rantai radikal bebas yang diawali dengan terbebasnya hidrogen dari suatu asam lemak tak jenuh oleh radikal bebas. Konsekuensi penting dari peroksidasi lipid adalah meningkatnya permeabilitas membran dan mengganggu distribusi ion-ion yang mengakibatkan kerusakan sel dan organela. Enzim transaminase merupakan enzim yang terdapat di dalam sel dan akan keluar lalu masuk ke

dalam pembuluh darah apabila sel mengalami kerusakan, sehingga kadarnya di dalam darah akan meningkat (Syahrizal, 2008).

Kelompok P1 (tikus yang diberi madu hutan Sumbawa sebanyak 25 mg/kg BB) menunjukkan nilai rata-rata kadar SGPT sebesar 36,12 μ /L. Kadar SGPT kelompok P1 mengalami penurunan sebesar 7,97% dari kelompok kontrol positif. Uji *Tukey* menunjukkan kadar SGPT kelompok P1 tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif. Hal ini dikarena pemberian dosis madu yang sedikit, sehingga dalam kerja antioksidan tidak maksimal dalam menghambat radikal bebas yang masuk dalam tubuh.

Kelompok P2 (tikus yang diberi dosis madu hutan Sumbawa 50 mg/kg BB) menunjukkan rata-rata kadar SGPT sebesar 30,15 μ /L. Kadar SGPT kelompok P2 mengalami penurunan sebesar 23,18% dari kelompok kontrol positif. Jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif hasil uji *Tukey* menunjukkan bahwa kadar SGPT kelompok kontrol negatif berbeda nyata dengan kelompok P2.

Kelompok P3 (tikus yang diberi dosis madu hutan Sumbawa 75 mg/kg BB) menunjukkan rata-rata kadar SGPT sebesar 26,52 μ /L. Kadar SGPT kelompok P3 mengalami penurunan sebesar 48% dari kelompok kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa dosis tersebut mampu menurunkan kadar SPGT secara signifikan dibandingkan dengan kelompok positif. Berdasarkan hasil kadar SGPT pada kelompok P1, P2, dan P3, bahwa semakin tinggi dosis preventif yang diberikan, maka semakin rendah kadar SGPT dalam darah.

Menurut Qodriyati *et al* (2016) salah satu langkah awal untuk menilai ada tidaknya perubahan pada jaringan dapat menggunakan parameter SGOT. SGOT merupakan suatu enzim dalam tubuh yang segera terdeteksi dalam sirkulasi perifer apabila terjadi trauma atau nekrosis pada suatu jaringan. Kadar SGOT pada pemeriksaan laboratoris dapat digunakan untuk menilai seberapa luas kerusakan hati namun SGOT juga banyak ditemukan pada jaringan selain hati seperti jantung. Perubahan kadar SGOT pada umumnya sering dikaitkan dengan penyakit hati namun tidak menutup kemungkinan perubahan SGOT juga terjadi akibat penyakit jantung. Hasil pengukuran SGOT dapat dilihat pada **Tabel 5.2** dan **Lampiran 12**.

Tabel 5.2 Kadar Rata-Rata SGOT dalam Darah Tikus Putih

Kelompok Perlakuan	Kadar SGOT (μL)	Kadar SGOT (%)	
	Rata-rata \pm SD	Peningkatan terhadap K-	Penurunan terhadap K+
Kontrol negatif (K-)	53,50 \pm 1,29 ^a	-	-
Kontrol positif (K+)	86,75 \pm 1,71 ^d	62,14	-
P1 Preventif 25 mg/kg BB madu hutan Sumbawa	84,25 \pm 1,71 ^d	-	2,88
P2 Preventif 50 mg/kg BB madu hutan Sumbawa	74,50 \pm 1,29 ^c	-	14,12
P3 Preventif 75 mg/kg BB madu hutan Sumbawa	66,00 \pm 1,83 ^b	-	23,91

Keterangan: Notasi yang berbeda (a, b, c, dan d) menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($P < 0,05$) antar kelompok perlakuan

Hasil ANOVA kadar SGOT pada tikus perlakuan menunjukkan adanya perbedaan signifikan (**Lampiran 9**). Kelompok tikus kontrol negatif berbeda signifikan dengan kelompok tikus kontrol positif. Kelompok tikus kontrol negatif memiliki kadar SGOT terendah dengan rata-rata kadar SGOT sebesar 53,5 μL karena kelompok kontrol negatif hanya diberi pakan normal

sedangkan kelompok tikus kontrol positif memiliki kadar SGOT tertinggi dengan rata-rata kadar SGOT 86,75 μL , dikarenakan tikus kontrol positif diinduksi Plumbum asetat yang akan memicu terbentuknya radikal bebas sehingga kadar SGOT dalam darah akan meningkat. Nilai rata-rata kadar SGOT pada kelompok kontrol negatif dan kontrol positif dijadikan sebagai acuan dalam keberhasilan pemberian madu hutan Sumbawa sebagai preventif akibat induksi Plumbum asetat pada tikus putih.

Hasil analisa dilanjutkan dengan uji *Tukey*. Kelompok kontrol negatif menunjukkan rata-rata kadar SGOT sebesar 53,5 μL . Menurut Prasetyo (2015), kadar normal SGOT tikus putih adalah 45,7-80,9 μL . Hal ini menunjukkan bahwa kadar SGOT kelompok kontrol negatif masih berada di bawah batas normal.

Berdasarkan analisis statistika diketahui bahwa induksi Plumbum asetat dapat meningkatkan kadar SGOT secara signifikan ($P < 0,05$). Rata-rata kadar SGOT pada kelompok kontrol positif sebesar 86,75 μL mengalami peningkatan sebesar 62,14% dari kelompok kontrol negatif. Hal ini dikarenakan adanya peningkatan stres oksidatif akibat dari paparan Plumbum asetat. Enzim SGOT bukan merupakan enzim spesifik untuk mendeteksi kerusakan hepar, karena selain enzim ini juga dapat dihasilkan di otot. Enzim ini keluar dari sitosol dan ada beberapa yang berasal dari mitokondria. Peningkatan kadar SGOT dapat terjadi ketika ada perubahan permeabilitas membran plasma sel hepar karena kekurangan suplai oksigen, efek toksin bakteri, obat, maupun bahan kimia (Santika, 2015). Uji *Tukey* menunjukkan

bahwa kadar SGOT kelompok kontrol positif berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif.

Kelompok P1 (tikus yang diberi madu hutan Sumbawa sebanyak 25 mg/kg BB) menunjukkan nilai rata-rata kadar SGOT sebesar 84,25 μ /L. Kadar SGOT kelompok P1 mengalami penurunan sebesar 2,88% dari kelompok kontrol positif. Uji *Tukey* menunjukkan kadar SGOT kelompok P1 tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif. Hal ini dikarena pemberian dosis madu yang sedikit, sehingga dalam kerja antioksidan tidak maksimal dalam menghambat radikal bebas yang masuk dalam tubuh.

Kelompok P2 (tikus yang diberi dosis madu hutan Sumbawa 50 mg/kg BB) menunjukkan rata-rata kadar SGOT sebesar 74,5 μ /L. Kadar SGOT kelompok P2 mengalami penurunan sebesar 14,12% dari kelompok kontrol positif.

Kelompok P3 (tikus yang diberi dosis madu hutan Sumbawa 75 mg/kg BB) menunjukkan rata-rata kadar SGOT sebesar 66 μ /L. Kadar SGOT kelompok P3 mengalami penurunan sebesar 23,91% dari kelompok kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa dosis tersebut mampu menurunkan kadar SGOT secara signifikan dibandingkan dengan kelompok positif. Berdasarkan hasil kadar SGOT pada kelompok P1, P2, dan P3, bahwa semakin tinggi dosis preventif yang diberikan, maka semakin rendah kadar SGOT dalam darah.

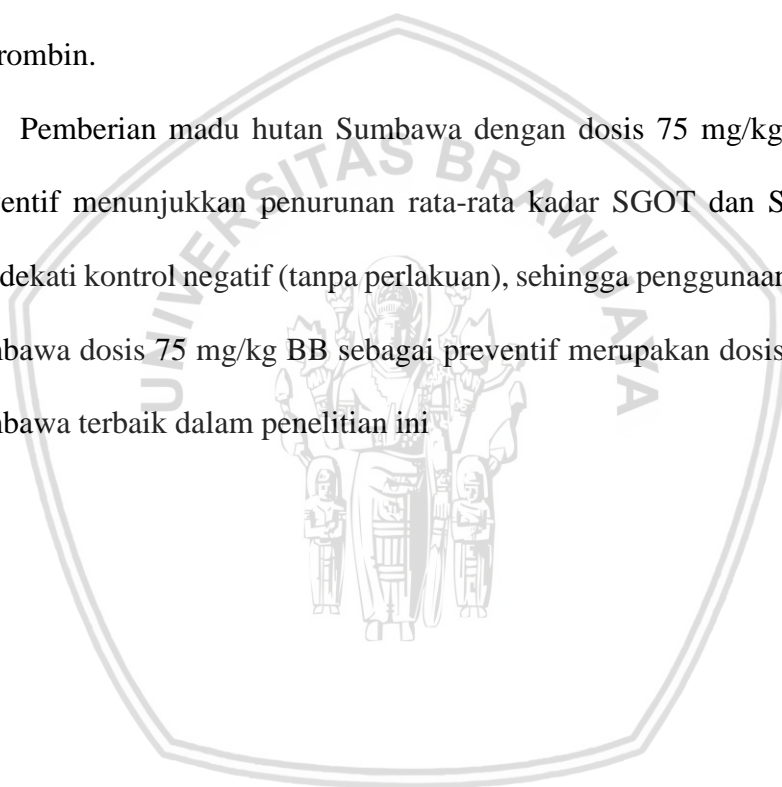
Adanya peningkatan aktivitas enzim SGOT dan SGPT menjadi indikator yang kuat dan peka terhadap kelainan pada sel-sel hepar. Hepar merupakan pusat terjadinya proses metabolisme dalam tubuh. Salah satu indikator

kerusakan sel-sel hati adalah meningkatnya enzim-enzim hati dalam serum. Enzim yang digunakan untuk pengukuran kerusakan organ hepar adalah *Aspartate Aminotransferase* (AST) atau disebut juga SGOT dan *Alanine Aminotransferase* (ALT) atau SGPT. Pada keadaan normal kadar enzim SGOT maupun SGPT di dalam darah rendah karena terdapat dalam sel, tetapi jika terjadi kerusakan jaringan, maka sel akan pecah dan enzim-enzim akan terurai keluar dari hepatosit masuk ke dalam sistem peredaran darah, sehingga kadarnya dalam darah akan meningkat dibandingkan keadaan normal (Suryaningsih, dkk, 2017).

Madu hutan Sumbawa mengandung antioksidan berupa flavonoid yang mampu menurunkan kadar SGPT dan SGOT dalam darah. Suatu zat dapat berpotensi sebagai antioksidan bila nilai EC_{50} nya berkisar antara 300-1000 ppm. Semakin rendah nilai EC_{50} yang diperoleh dari pengujian antioksidan madu, maka madu tersebut dinilai semakin berpotensi sebagai antioksidan alami. Meskipun nilai EC_{50} madu hutan Sumbawa memiliki konsentrasi 4341 ppm, madu hutan Sumbawa memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan madu hasil budidaya lebah madu dengan nektar randu dan kelengkeng. Madu randu dan madu kelengkeng memiliki konsentrasi 8000 ppm (Sholihah, 2013). Komponen flavonoid dapat terbawa dalam aliran darah dan bersirkulasi bersama plasma, begitu juga komponen antioksidan yang terkandung di dalam madu hutan Sumbawa. Senyawa-senyawa antioksidan kelompok flavonoid ini akan masuk ke dalam sel-sel tubuh, menstabilkan radikal bebas dengan cara mendonorkan atom hidrogennya (Zakaria, 2016).

Sari, dkk (2015) menyatakan bahwa penegakan diagnosis pada kerusakan hati tidak bisa ditegakkan dengan melihat kadar satu senyawa biokimia saja. Diagnosa penyakit pada hati dilakukan dengan menggunakan beberapa senyawa biokimia sebagai parameter kerusakan hati. Uji serum dapat digunakan untuk mengetahui gangguan metabolik pada hati dengan mengukur kadar protein total, albumin, nitrogen urea serum, amonia dan juga masa protrombin.

Pemberian madu hutan Sumbawa dengan dosis 75 mg/kg BB sebagai preventif menunjukkan penurunan rata-rata kadar SGOT dan SGPT hingga mendekati kontrol negatif (tanpa perlakuan), sehingga penggunaan madu hutan Sumbawa dosis 75 mg/kg BB sebagai preventif merupakan dosis madu hutan Sumbawa terbaik dalam penelitian ini



BAB 6 PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan data hasil penelitian dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Madu hutan Sumbawa dapat digunakan sebagai preventif untuk mencegah paparan Plumbum asetat yang masuk ke dalam tubuh.
2. Pemberian madu hutan Sumbawa sebagai preventif dapat memperbaiki histopatologi hepar dan dapat menurunkan kadar SGPT dan SGOT darah tikus putih yang telah diinduksi Plumbum asetat dengan dosis terbaik yaitu 75 mg/kg BB.

6.2 Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis madu hutan Sumbawa yang lebih optimal dalam mencegah paparan Plumbum asetat di dalam tubuh, sehingga didapatkan perbaikan jaringan yang lebih maksimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Aisyah, S., H. Budiman., D. Florenstina., dan D. Aliza. 2015. Efek Pemberian Minyak Jelantah terhadap Gambaran Histopatologis Hati Tikus Putih. *Jurnal Media Veterinaria*, 9(1):23.
- Andreas, H., F.T, Heru., dan I, In'am. 2015. Gambaran Histologi Regenerasi Hati Pasca Penghentian Paparan Monosodium Glutamat pada Tikus Putih. *eJKI*, 3(1):29-36.
- Aprilia, D. 2015. Potensi Kitosan sebagai Agen Antioksidan pada Hepar yang Diinduksi Plumbum. *Majority*, 4(8):85-88.
- Ardyanto, D. 2005. Deteksi Pencemaran Timah Hitam (Pb) dalam Darah Masyarakat yang Terpapar Timbal (Plumbum). *Jurnal Kesehatan Lingkungan*, 2(1):07-76.
- Astuti, S. 2008. Isoflavon Kedelai dan Potensinya sebagai Penangkap Radikal Bebas. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*, 13(2):126-136.
- Auliyah, R. 2016. *Gambaran Histopatologi Hepar Ayam Pedaging yang Diinfeksi L2 Toxocara vitulorum*. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Azwan, M., Sunart., dan S. Setyono. 2011. Kandungan Logam Berat Tembaga dan Protein Ikan Nila di Keramba Jaring Apung Waduk Gajah Mungkur Wonogiri, Jawa Tengah. *Bonorowo Wetlands*, 1(2):70-79.
- Bijanti, R. 2011. Parameter hematologi Kambing Kacang Desa Mojosarirejo Driyorejo Gresik. *Veterinaria Medika*, 4(3):187-192.
- Cashin-Garbut, A. dan A. Mandall. 2012. *Oxidative Stress in Disease*. <http://www.news-medical.net/health/Oxidative-Stress-In-Disease.aspx>. Diakses tanggal 29 September 2016.
- Daulay, M. 2011. *Pengaruh Pemberian Vitamin E Terhadap Jumlah, Morfologi, dan Motilitas Sperma serta Kadar Malondialdehyde Testis Mencit Jantan Dewasa yang Mendapat Latihan Fisik Maksimal*. Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara.
- Ensminger, H.A., M.E. Ensminger., J.E. Konlande., dan J.R.K. Robson. 1995. *The Concise Encyclopedia of Foods and Nutrition*. Boca Raton, CRC Press.

- Estevinho, L., A.P. Pereira., L. Moreira., L.G. Dias., dan E. Pereira. 2008. Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey. *Food and Chemical Toxicology*, 46(12):3774-3779.
- Fahmi, M., F. Yudha., A. Dwinna., B. Hamdani., A. Siti., dan H. Muhammad. 2015. Gambaran Histopatoloogis Hati Tikus yang Diinfeksi *Trypanosoma evansi* setelah Pemberian Ekstrak Kulit Batang Jaloh. *Jurnal Medika Veterinaria*, 9(2):141-145.
- Faisal, F., K.A. Kamil., dan A. Yulianti. 2015. *Pengaruh Pb Asetat dalam Air Minum Terhadap Konsentrasi Plumbum dan Kalsium dalam Ginjal Puyuh Fase Grower*. Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran. Bandung.
- Febianty, N., S. Christine., dan S. Lisawati. 2010. *Perbandingan Pemeriksaan Kadar Hemoglobin dengan Menggunakan Metode Sahli dan Autoanalyzer pada Orang Normal*. Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha.
- Gurer, H., dan N. Ercal. 2000. Antioksidan sebagai Treatment terhadap Keracunan Timbal. *Free Radic Biomol Med*, 29(10):927-945.
- Guyton, A.C., dan E. Hall. 2008. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Terjemahan*. EGC. Jakarta.
- Haki, M. 2009. *Efek Ekstrak Daun Talok (Muntingia Calabura L.) terhadap Aktivitas Enzim SGPT pada Mencit yang Diinduksi Karbon Tetraklorida*. Skripsi. Universitas Sebelas Maret : Tidak diterbitkan.
- Irgantara, V.P. 2015. *Gambaran Histopatologi Hepar Mencit yang Diinfeksi Toxoplasma gondii Secara Intravagina*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Insani, A., Samsuri., dan B. I Ketut. 2015. Gambaran Histopatologi Hati Tikus Putih yang Diberikan Deksametason dan Vitamin E. *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(3):228-237.
- Januar, R., Yusfiati., dan Fatmawati. 2014. Struktur Mikrskopis Hati Tikus Putih Akibat Pemberian Ekstrak Tanaman *Tristaniopis whiteana* Griff. *JOM FMIPA*, 1(2):392-401.
- Junqueira, L.C., dan J. Carneiro. 2011 *Histologi Dasar Teks dan Atlas*, edisi ke-12. Huriawati H, penerjemah. Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Terjemahan dari: *Basic Histopathology*.

- Junqueira, L.C., dan J. Carneriro. 2007. *Histologi Dasar Teks dan Atlas*, edisi ke-10. Buku Kedokteran EGC. Jakarta, hlm. 369–375.
- Kafiar, F.P., S. Prabang., dan R.H. Ari. 2013. Analisa Pencemaran Logam Berat (Pb dan Cd) pada Sapi Potong di Tempat Pembuangan Akhir Sampah Putri Sempo Surakarta. *Jurnal EKOSAINS*, 5(2):32-39.
- Khadr, M.E., K.A. Mahdy., K.A. El-Shamy., F.A. Morsy., S.R. El-Zayat., dan A.A. Abd-Allah. 2007. Antioxidant Activity and Hepatoprotective Potential of Black Seed, Honey and Sylmarin on Experimental Liver Injuries Induced by CCL4 in Rats. *Journal of Applied Siences*, 7(24):3909-3917.
- Krinke, G.J. 2000. *The Laboratory Rat*. Academic Press. San Diego, California, hlm. 150-152.
- Lina, H.S., S. Listyawati., dan Sutarno. 2003. Analisa Kimia-Fisika Urin Tikus Putih setelah Pemberian Daun Seledri. *Biosmart*, 5(1):43-45.
- Lubis, B., N. Rosdiana., S. Nafi., O. Rasyianti., F.M. Panjaitan., D. Ilmu. 2013. Hubungan Keracunan Timbal dengan Anemia Defisiensi Besi pada Anak. *CDK-200* 40(1):17–21.
- Maslachah, L., R. Sugihartuti., dan R. Kurniasanti. 2008. Hambatan Produksi Reakative Oxygen Species Radikal Superoksida oleh Antioksidan Vitamin E pada Tikus Putih yang Menerima Stressor Renjatan Listrik. *Media Kedokteran Hewan*, 24(1):21-26.
- Mustikasari, D. 2014. *Manfaat Madu dalam Kajian Hadists dan Perspektif Ilmu Kesehatan*. Fakultas Ushuluddin Institut Agama Islam Negeri Wilisongo Semarang.
- Nasution, A.Y., P. Adi., dan P.A. Santosa. 2015. Pengaruh Ekstrak Propolis terhadap Kadar SGOT dan SGPT pada Tikus Putih Galur Wistar dengan Diet Tinggi Lemak. *Majalah Kesehatan FKUB*, 2(3):120-126.
- Nugroho, M.D. 2014. *Efek Protektif ekstrak Etanol Daun Binahong Terhadap Gambaran Histopatologi Hati Tikus Putih yang Diinduksi oleh Etanol*. Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Panna, A. 2009. *Pengaruh Pemaparan Logam Berat Pb (Timbal) Terhadap Perubahan Wama dan Peningkatan Presentase Anakan Jantan Daphnia sp.* Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga.

- Peanasari, A.R.I., S.L. Djamil., dan A. Rohmani. 2015. Pengaruh Formalin Peroral terhadap Kadar SGOT dan SGPT Tikus Wistar. *Jurnal Kedokteran Muhammadiyah*, 2(1):34-38.
- Prasetiawan, E., S. Emita., dan I, Syafruddin. 2013. *Gambaran Histologis Hepar Mencit Strain DDW Setelah Pemberian Ekstrak N-Heksan Buah Andaliman selama Masa Pra Implantasi dan Pasca Impalantasi*. Fakultas MIPA. Universitas Sumatra Utara.
- Prasetyo, M.A. 2015. *Efek Pemberian Vitamin E terhadap Kadar SGOT dan SGPT Serum Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Diberi Aktivitas Fisik*. Universitas Negeri Semarang.
- Purwatari, N.E. 2016. *Pengaruh Pemberian Dosis Bertingkat Ekstrak Kulit Buah Naga Putih Terhadap Gambaran Mikroskopis Hepar Mencit Balb/c yang Diberi Paparan Asap Obat Nyamuk Bakar*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Qodriyati, N.L.Y., E. Sulistyani., dan B. Yuwono. 2016. Kadar Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase pada Tikus Wistar Jantan yang Dipapar Stresor Rasa Sakit Electrical Foot Shock selama 28 hari. *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*, 2(1):73-77.
- Rarangsari, N.E. 2015. *Pengaruh Ekstrak Daun Sirsak terhadap SOD dan Histologi hepar Tikus yang Diinduksi Aloksan*. Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Ribarov, S.R., Benov, L.C and Benchev, I.C. 2001. The Effect of Lead on Hemoglobin Catalyzed Lipid Peroxidation. *Biochim Biophys Acta*, 664: 453-459.
- Rohmatin, A.R., S, Eko., dan H, Samsun. 2015. Kerusakan Sel Hepar Tikus Putih Jantan yang Diinduksi Karbon Tetraklorida setelah Diberi Ekstrak Etanol Bawang Dayak. *SP*, 20(2):942-947.
- Rosida, A. 2016. Pemeriksaan Lobaratorium Penyakit Hati. *Berkala Kedokteran*, 12(1):123-131.
- Santika, N.D. 2016. *Pengaruh Paparan Plumbum dalam Air pada Penggunaan Pipa Polyvinyl Chloride terhadap Gambaran Histopatologi Hepar, Kadar SGOT, dan SGPT Darah Tikus Putih*. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya, Malang.

- Sardini, S. 2007. Penentuan Aktiitas Enzim GOT dan GPT dalam Serum dengan Metode Reaksi Kinetik Enzimatik Sesuai IFCC. *Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi-Badan Tenaga Nuklir Nasional*, hlm 91-106.
- Sari, H.K., B, Roedy., dan S, Ema. 2015. Kadar SGPT pada Tikus Wistar Jantan yang Dipapar Stresor Rasa Sakit berupa *Electrical Foot Shock* selama 28 Hari. *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*, 3(1):205-211.
- Setyoningsih, O.C., O. Setiani., dan Y.H. Darundari. 2016. Hubungan Antara Paparan Timbal (Pb) dengan Laju Endap Darah pada Pekerja Bagian Pengecatan Industri Karoseri di Semarang. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 4(3):852-861.
- Sholihah, J. 2013. *Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Tiga Jenis Madu Hutan Indonesia*. Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor.
- Sihombing, M., dan Raflizar. Status Gizi dan Fungsi hati Mencit dan Tikus Putih di Laboratorium Hewan Percobaan PUSLITBANG Biomedis dan Farmasi. *Media Litbang Kesehatan*, 20(1):33-40.
- Sulistianto, D.E., H, Martini., dan S.H, Noor. 2004. Penaruh Pemberian Ekstrak Buah Mahkota Dewa terhadap Struktur Histologis Hepar Tikus Putih setelah Perlakuan dengan Karbon Tetraklorida secara Oral. *BioMART* 6(2):91-98.
- Sumarlin, L.O., M, Anna., W, Prita., dan Masitoh. 2014. Aktivitas Antikanker dan Antioksidan Madu di Pasaran Lokal Indonesia. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 19(3):136-144.
- Suprijono, A., Chodidjah dan S. Banun. 2011. Pengaruh Pemberian Timbal (Pb) Per Oral terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Studi Eksperimental Laboratorik pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar. *Majalah ilmiah sultan agung* 49(123):1-12.
- Suratno, E.W. 2013. *Validasi Metode Analisis Pb Dengan Menggunakan Flame Spektrofotometer Serapan Atom (Ssa) Untuk Studi Biogeokimia Dan Toksisitas Logam Timbal (Pb) Pada Tanaman Tomat (Lycopersicum Esculentum)*. Universitas Lampung.
- Surya, H., M, Yul., dan Tahono. 2009. Efek Ekstrak Buah Mengkudu terhadap Kadar Enzim SGOT dan SGPT pada Mencit dengan Induksi Karbon Tetraklorida. *Biofarmasi*, 7(2):87-93.

- Suryaningsih, N.M., I.A.T, Dewi., N.K.A, Suksmawati., N.P.R.A, Putri., N.M, Febrianti., dan N.K, Warditiani. 2017. Pengaruh Kadar SGOT SGPT dan Morfologi Hepar Tikus Putih Betina Wistar pada Pemberian Isolat *Andrgrafolid*. *Jurnal Farmasi Udayana*, 6(1):34-38.
- Syahrizal, D. 2008. *Pengaruh Proteksi Vitamin C Terhadap Enzim Transaminase dan Gambaran Hati Mencit yang Dipapar Plumbum*. USU e-Repository.
- Treuting, P.M., M.D. Suzanne., dan S.M. Kathleen. 2018. *Omparative Anatomy and Histology: A Mouse, Rat, and Human Atlas*. Elsevier Academic Press: London.
- Trijayanti, R. 2010. *Pengaruh Timbal pada Udara Jalan Tol Terhadap Gambaran Mikroskopis Hepar dan Kadar Timbal dalam Darah Mencit BALB/C Jantan*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Wardhayani, S. 2006. *Analisis Risiko Pencegahan Bahan Toksik Timbal (Pb) pada Sapi Potong di Tempat Pembuangan Akhir Sampah Jatibarang Semarang*. Universitas Diponegoro Semarang.
- Werdhasari, A. 2014. Peran Anti Oksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, 3(2):59-68.
- Wibowo, A.A., L. Maslachah., dan R. Bijanti. 2005. *Pegaruh Pemberian Perasan Buah Mengkudu terhadap Kadar SGOT dan SGPT Tikus Putih Diet Tinggi Lemak*.
- Widiartini, W., E. Siswati., A. Setiyawati., I.M. Rohmah., dan E. Prasetyo. 2013. *Pengembangan Usaha Produksi Tikus Putih (Rattus norvegicus) Tersertifikas Dalam Upaya Memenuhi Kebutuhan Hewan Laboratorium*. Universitas Diponegoro.
- Zakaria, F.R., P.R.F, Delina., dan D.Y, Nancy. 2016. Konsumsi Tahu Kedelai Hitam untuk Memperbaiki Nilai SGOT/SGPT dan Aktivitas Antioksidan Plasma Penderita Diabetes Tipe 2, *PANGAN* 25(2):95-104.
- Zukiaturrahmah, A. 2015. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Propolis Trigona sp. Terhadap Kadar SGOT dan ALP pada Tikus Putih yang Diinduksi Kloramfenikol*. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya, Malang.
- Zulhawa, D.J. 2010. *Daya Hambat Madu Sumbawa Terhadap Pertumbuhan Kuman Staphyloocus aureus Isolat Infeksi Luka Operasi RS Islam Amal Sehat Sragen*. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret. Surakarta.